

Nachlaß von Prof. N. N.

Herausgegeben von

Unter redaktioneller Mitarbeit von

Band LXXIX, Zweites Heft

Mit 20 Textabbildungen

(Abgeschlossen am 30. April 1930)



Wien
Verlag von Julius Springer
1930

Österr.
bot. Z.

Preis: RM 9,80

Die „Österreichische Botanische Zeitschrift“

erscheint in einem Gesamtumfang von jährlich etwa 24 Bogen, in 4 einzeln berechneten Heften.

Zuschriften, welche den Bezug der Zeitschrift oder sonstige Verlagsangelegenheiten betreffen, sowie erledigte Korrekturen sind an den Verlag Julius Springer, Wien I, Schottengasse 4, zu richten; Manuskriptsendungen an den Herausgeber oder an die Schriftleitung der Österreichischen Botanischen Zeitschrift, Wien III, Rennweg 14.

Die Verfasser erhalten 50 Sonderabdrucke ihrer Arbeit kostenfrei. Über die Freiemplare hinaus bestellte Exemplare werden berechnet. Die Herren Mitarbeiter werden jedoch in ihrem eigenen Interesse ersucht, die Kosten vorher vom Verlag zu erfragen.

Verlag Julius Springer

79. Band	Inhaltsverzeichnis	2. Heft
		Seite
Wallisch Rudolf , Die Chromosomenverhältnisse bei <i>Tilia platyphyllos</i> , <i>Tilia cordata</i> und <i>Tilia argentea</i> . (Mit 1 Textabbildung.)		97
Klein Gustav und Farkass Elisabeth , Der mikrochemische Nachweis der Alkaloide in der Pflanze. XIV. Der Nachweis von Cytisin. (Mit 3 Textabbildungen.)		107
Klein Gustav und Linser Hans , Fluoreszenzanalytische Untersuchungen an Pflanzen. (Mit 6 Textabbildungen.)		125
Schussnig Bruno , <i>Ochrosphaera neapolitana</i> , nov. gen., nov. spec., eine neue Chrysomonade mit Kalkhülle. (Mit 4 Textabbildungen.)		164
Schussnig Bruno , Phykologische Beiträge II. (Mit 4 Textabbildungen.)		171
Schnarf Karl , Zur Kenntnis der Samenentwicklung von <i>Roridula</i> . (Mit 2 Textabbildungen.)		180
Besprechungen		183
DU RIETZ G. E., Vegetationsforschung auf soziations-analytischer Grundlage. — HUECK K., Die Pflanzenwelt der deutschen Heimat und der angrenzenden Gebiete, in Naturaufnahmen dargestellt und beschrieben. — JÁVORKA S. és CSAPODY V., A Magyar flóra képekben. Iconographia florae Hungaricae. — KAPPEN H., Die Bodenazidität, nach agrikulturchemischen Gesichtspunkten dargestellt. — KERNER A. (R. v. MARILAUN), Das Pflanzenleben der Donauländer. — MÖLLER A., Der Waldbau. — PRJANISCHNIKOW D. N., Spezieller Pflanzenbau. — TSCHERMAK L., Die Verbreitung der Rotbuche in Österreich. Ein Beitrag zur Biologie und zum Waldbau der Buche. — TURRILL W. B., The plant-life of the Balkan Peninsula. — ZUMPFE H., Obersteirische Moore.		
Akademien, Botanische Gesellschaften, Vereine, Kongresse usw.		190
Fünfter Internationaler Botanischer Kongreß. — Botaniker-Tagung in Erfurt. — Fünfter Internationaler Limnologenkongreß. — Naturforscher-Versammlung in Königsberg.		
Botanische Sammlungen, Museen, Institute usw.		192
Neuere Exsikkatenwerke.		
Personalnachrichten		192

Die Chromosomenverhältnisse bei *Tilia platyphyllos*, *Tilia cordata* und *Tilia argentea*

Von

Rudolf Wallisch (Wien)

(Mit 1 Textabbildung)

Die vorliegende Arbeit wurde im Botanischen Institut der Universität Wien auf Anregung von Hofrat Professor Dr. RICHARD V. WETTSTEIN durchgeführt. Es sei mir erlaubt, meinem verehrten Lehrer an dieser Stelle für die Zuweisung des Themas zu danken. Ebenso sei Herrn Dozenten Dr. H. CAMMERLOHER für seinen Rat und vielfache Literaturhinweise besonders gedankt.

Eine Beschreibung der drei untersuchten Arten kann hier füglich übergangen werden. Doch sei auf eines besonders hingewiesen: Die Linden gehören zu den variabelsten Laubbäumen. *Tilia platyphyllos* und *Tilia cordata* zeigen nicht nur größte Ähnlichkeit im vegetativen Aufbau — hatte doch LINNÉ beide Arten als *Tilia europaea* zusammengefaßt — und in den Struktureigenschaften, die sich bis auf die Gleichwertigkeit ihrer offizinellen Flores erstreckt, sondern die beiden Arten sind auch durch eine Reihe von Varietäten, Bastarden und Kulturformen fast lückenlos verbunden. Worauf sich die Unterscheidung heute stützt, sind die Reichblütigkeit der Blütenstände, die Ausbildung der Frucht, die Blütezeit, die Farbe der Blattunterseiten und Domatien, die Baumgröße und die geographische Verbreitung. Die zum Teil dimensionellen Artunterschiede legten die Vermutung nahe, daß es sich um „Gigas-“ bzw. „Pygmaeus“-Formen handle.

In der Literatur weist nur eine 1925 erschienene embryologische Arbeit STENARS einzelne Sätze auf, die von einer im Sinne meiner Arbeit angestellten Untersuchung berichten. STENAR stellt besonders fest, daß die Chromosomen der Tiliaceen äußerst klein und ihre Haploidzahlen ziemlich hoch seien, für *Tilia platyphyllos* gibt der Verfasser „eine approximativ festgestellte Zahl mit mindestens 90 bis 100 Chromosomen in wahrscheinlich triploider Phase“ an, für *Entelea palmata* und *Sparmannia africana* konnte er genauere Zahlenwerte ermitteln. Die daraus rechnerisch gefundenen Haploidzahlen führt TISCHLER 1927 in den Chromosomen-

tafeln an. Das sind die einzigen Angaben, die die einschlägige Literatur über die Chromosomenverhältnisse bei den Tiliaceen aufzuweisen hatte.

Die Untersuchungen wurden hauptsächlich nur an Teilungsschritten der Reduktionsteilung in den Pollenmutterzellen durchgeführt. Das Material dazu stammt ausschließlich aus dem Botanischen Garten der Universität Wien.

Die ersten Fixierungen Mitte bis Ende Mai 1927 brachten nur zum Teile brauchbare Resultate. Ein Treibversuch nach Wasserbad und im Warmhause hatte keinen Erfolg. Die Infloreszenzen sind Achselsprosse der Triebe des betreffenden Jahres, womit sich auch die späte Blütezeit erklärt. Erst die neuerlichen Fixierungen Ende Mai bis Mitte Juni 1928 wiesen die gewünschten Stadien auf. Von den untersuchten Pflanzen werden die Nachtzeiten zur Reduktionsteilung nicht bevorzugt.

An Fixiergemischen kamen zur Verwendung:

1. Juel (Juel II nach SIEBEN), das sich nicht sonderlich bewährte, da nach dieser Fixierung die Chromosomen meist unscharf begrenzt, gequollen und verklebt waren.

2. Flemming (das schwächere nach SIEBEN), das gut bis in die Spindelstruktur fixierte, daher sehr brauchbar war.

3. Alkohol-Eisessig (Mischungsverhältnis 2:1) im heißen Zustand; damit fixierte Objekte ließen von Spindel und Spindelstruktur nichts erkennen, weshalb gute Kernplattenzählungen in der Meta- und Anaphase möglich waren.

Die meist 7μ dicken Schnitte wurden nach HEIDENHAIN mit Eisenalaun-Hämatoxylin gefärbt. Versuche, nach der HEITZschen Kochmethode zu färben, endeten infolge der Kleinheit der Chromosomen und ihrer außerordentlichen Verklebungsfähigkeit negativ.

1. Die Form der Chromosomen

zugleich die Beschreibung des Reduktionsverlaufes in der Pollenmutterzelle

Die einzelnen Arten zeigen in ihrem Verhalten im Laufe der Reduktionsteilung größte Übereinstimmung. Die Pollenmutterzelle rundet sich zu Beginn der Reduktionsteilung ab, wodurch an den Zellkanten und -ecken freie Räume entstehen. In ihrem Kerne treten unter Volumszunahme die normalen präsynaptischen Stadien auf. Ein genaues Studium der „Chromosomenkonjugation“ wurde durch die Zartheit der Chromatinfäden und durch die Dichte des allmählich auftretenden Knäuels verhindert. Die Lage des Nukleolus ist nicht bestimmt. Die Synapsis selbst dauert ziemlich lange an — beobachtet wurden zwei bis drei Tage — dann tritt der Kern nach kurzem Parallelfadenstadium, das nur an günstig fixierten Präparaten sichtbar ist, unter Individualisierung der Einzelchromosomen in das Stadium der Diakinese. Anfangs sind die Chromosomen länglich und dünn, zu zweien annähernd parallel gelagert

und durch Anastomosen verbunden, sie verdicken sich fortschreitend zu immer kürzeren, schließlich punktförmigen Paaren (Gemini), d. i. der Höhepunkt der Diakinese. Kreuzförmig gepaarte Gemini konnten nur sehr selten beobachtet werden, meist berührten sich die Längsseiten ganz oder nur mit den Enden und bei der Vorliebe zu Verklebungen konnten oft die Einzelchromosomen nicht mehr erkannt werden (besonders bei *Tilia cordata* war dies der Fall). Die Gemini liegen jetzt einzeln für sich, verstreut an der Oberfläche des Kernes, der nun vollkommen durchsichtig ist und seine maximale Größe erreicht hat (erster Zeitpunkt zu Zählungen, s. Fig. 3 der Textabbildung). Der Nukleolus liegt peripher im Kerninnern, an seiner Oberfläche haften meist zwei bis fünf Chromosomen; er ist vorerst noch dunkel gefärbt, wird allmählich durchsichtiger und kleiner, und während die letzten Chromosomen von ihm frei werden, verschwindet er vollständig. Da beginnt auch die Umgruppierung zur ersten Metaphase. Die „Oberflächenspannung“ scheint plötzlich abgebrochen zu sein, die Chromosomen liegen wirr durcheinander, eigene Bewegungsfähigkeit oder Zug- bzw. Druckfasern mögen bewirken, das normale Bild der ersten Metaphase herzustellen. Die Chromosomen stellen sich in diesem Stadium in der Seitenansicht als zwei schwach aneinander gedrückte Kugeln dar, von denen jede einem Pole zugewendet ist; vom Pol her betrachtet erscheinen sie als eine einzige Kugel, die eine Auflösung in ihre abgegliederten Hälften nicht erlaubt (zweiter, günstigster Zeitpunkt zu Zahlenfeststellungen, s. Fig. 4). Die bipolare Spindel ist polwärts spitz ausgezogen, der dichte Faserkegel kann bei günstiger Fixierung vollkommen unsichtbar bleiben. Unter Verkürzung der Spindel treten die Hälften auseinander, es bleibt — wenigstens bei Fixierung mit Flemming — in der Äquatorebene eine hellere, glasartige Masse zurück (erste Anaphase, dritter Zeitpunkt zu Zählungen). Von einer dem nächsten Teilungsschritte vorweggenommenen Teilung der neuen Einzelchromosomen ließ sich nichts erkennen. Die an den Polen angelangten Chromosomen bilden ein der Diakinese ähnliches Stadium, jedoch ohne Nukleolus und entsprechend kleiner: Die Interkinese (vierter Zeitpunkt zu Zählungen, in unserem Falle jedoch wegen der Kleinheit der Objekte nicht besonders günstig). Die Chromosomen sind zum Teil durch Anastomosen verbunden und scheinen kurze Zeit zu ruhen.

Der zweite Teilungsschritt wird eingeleitet durch die Anordnung der Chromosomen zur zweiten Metaphase (fünfter Zeitpunkt zu zahlenmäßigen Feststellungen, s. Fig. 1 und 5). Dies Stadium gleicht der ersten Metaphase in Bezug auf Chromosomenform vollkommen; auch hier sind die Einzelchromosomen kugelig-ellipsoidisch, alle ungefähr gleich groß; sie lösen sich auch hier in der Seitenansicht als zwei in der Äquatorebene aneinander haftende Kugeln auf. Die Spindel sind auch hier spitz ausgezogen, sie liegen in ihren Achsen meist senkrecht zu einander (sich über-

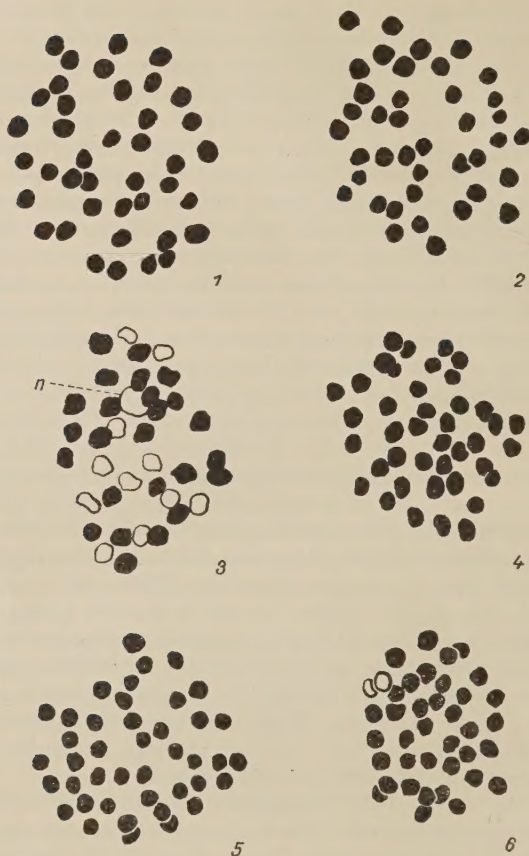


Fig. 1 und 2. *Tilia platyphyllos*; Fig. 3 und 4 *Tilia cordata*; Fig. 5 und 6. *Tilia argentea*. Alle Abbildungen sind zirka 3000fach vergrößert und mit freier Hand gezeichnet.

Fig. 1. Zweite Metaphase mit zirka 40 Chromosomen.

Fig. 2. Zweite Anaphase mit zirka 40 Chromosomen.

Fig. 3. Diakinesestadium mit zirka 36 Chromosomen.

Die tiefer liegenden Chromosomenpaare (Gemini) wurden weiß gelassen, um die Verteilung auf der Oberfläche des Kernes wenigstens etwas anzudeuten. n = der noch vorhandene Nukleolus.

Fig. 4. Erste Metaphase mit zirka 40 Chromosomen.

Fig. 5. Zweite Metaphase mit zirka 40 Chromosomen.

Fig. 6. Zweite Anaphase mit zirka 40 Chromosomen. Die weiß gehaltenen Chromosomen liegen etwas höher als die übrigen der Platte.

kreuzend), manchmal auch parallel. Die schon in der Metaphase ange-deutete Teilung der Einzelchromosomen vollzieht sich nun zur zweiten Anaphase (sechster Zeitpunkt zu Zählungen, s. Fig. 2 und 6). Der Kern tritt dann rasch ins Ruhestadium und ist im Vergleiche mit dem Kerne der Pollenmutterzelle entsprechend kleiner geworden. Die Aufteilung des Zytoplasmas an die vier Tetradenkerne erfolgt erst jetzt, es liegt also simultane Pollenzellbildung vor. Die Tapetenzellen geben in diesen und den folgenden Stadien ihre zellenmäßige Beschaffenheit nicht auf, bilden kein Periplasmodium, sind aber, wie ihre Struktur — dichtes, dunkel-gefärbtes Plasma, Kernreichtum — andeutet, sicher mit der Ausbildung des Pollens funktionell verbunden.

Im Laufe der Reduktionsteilung in der Pollenmutterzelle, die in der normalen Weise vor sich geht, zeigen die Einzelchromosomen eine kleinkugelig-ellipsoidische Form, die eine Wiedererkennung eines Chromosoms in verschiedenen Teilungsschritten nicht möglich macht, wodurch wieder eine zeitliche Festlegung des homöo- bzw. heterotypen Teilungsschrittes ausgeschlossen wurde. Die gleichen Chromosomenformen, nur entsprechend kleiner, zeigen auch die beobachteten vegetativen Teilungen.

2. Die Zahl der Chromosomen

Zur Feststellung der Chromosomenzahl bediente ich mich besonders der ersten und zweiten Metaphase, sowie der Diakinese; Zählungen an der ersten und zweiten Anaphase und an der Interkinese wurden nur im beschränkten Maße zur Kontrolle der erhaltenen Zahlen und zur Bestimmung der Haploidzahlen durchgeführt. Die Zählungen gaben keine eindeutig bestimmten Werte, sondern ließen nur die Aufstellung von Mittelwerten, also bloß Näherungsangaben zu, wobei die Gruppierung um die Mittelzahl annähernd regelmäßig, ein bis zwei Chromosomen nach auf- oder abwärts erfolgte. Da doch anzunehmen ist, daß jede Art ihre eindeutig feststehende Chromosomenzahl besitzt, will ich für die Unregelmäßigkeiten hauptsächlich die Schwierigkeit der Beobachtung verantwortlich machen. Als Ursachen für die Beobachtungsfehler möchte ich angeben: geringe Größe der Einzelchromosomen, ihre Verklebungsfähigkeit, Kernverletzungen und einen subjektiven Faktor.

Diese einzelnen Punkte seien näher ausgeführt. Über die Chromosomengröße, die der Auflösungsfähigkeit unüberschreitbare Grenzen setzen, handelt der nächste Abschnitt. Hier sei nur angeführt, daß es sich bei allen drei Arten um sehr kleine Chromosomen handelt. Die Verklebungsfähigkeit ist bei den einzelnen Arten verschieden stark ausgeprägt und wohl auch in starkem Maße von der Fixiermischung abhängig. So erhielt ich bei mit Alkohol-Eisessig fixierten Metaphasen der *Tilia cordata* einheitlich verklebte Äquatorial-, „Platten“ im wahrsten Wortsinne, die eine Erkennung des Einzelchromosoms einfach aus-

schlossen. Gleich fixiertes, im gleichen Stadium befindliches Material von *Tilia argentea* zeigte sehr gut färbbare und leicht zählbare Stadien. Ebenso verhielt sich die Diakinese. Bei *Tilia cordata* waren die Gemini so arg verklebt, daß sie dann wie ein einziges Chromosom aussahen (s. Fig. 3). Auch hier nahm die Verklebungsfähigkeit von *Tilia cordata* über *Tilia platyphyllos* bis *Tilia argentea* ab. Am wenigsten wiesen die mit Flemming fixierten Präparate Verklebungserscheinungen auf. Die Kernverletzungen — es handelt sich hier nur um Schnittverletzungen — wurden im allgemeinen leicht und sofort erkannt. Wo der geringste Verdacht einer Verletzung bestand, wurde das Stadium sofort übergangen. Doch ist es immerhin möglich, daß geringfügige Verletzungen (ein bis wenige Chromosomen) nicht erkannt wurden. In dem Bestreben, die Schnitte möglichst dünn herzustellen, wurden am meisten die Stadien der Diakinese (infolge der Kerngröße) den Verletzungen ausgesetzt. Eine genaue Untersuchung auf Verletzungen hin mußte jeder Zählung vorausgehen. Schließlich spielt noch ein subjektiver Faktor mit, den ich aber durch folgende Maßnahmen so weit als möglich zu beseitigen hoffte: In Fällen, die eine zweifache Auslegung erlaubten, stellte ich zuerst die Zahlen fest in dem Bestreben, zu möglichst niederen Werten zu gelangen, hierauf wurden die zweifelhaften Stellen zu einer höchstmöglichen Zahl gedeutet und aus diesen beiden Werten das Mittel angegeben. Es kamen dabei Fälle vor, die einen Unterschied von 1 bis 3, ja 5 in den beiden Zählungen aufwiesen. Betrug der Unterschied mehr als 5, wurden die Schnitte nicht zu Zählungen herangezogen. Um der Beeinflussung durch einmal gefundene Zahlenwerte zu begegnen, wurden eine größere Anzahl von Stadien ohne sofortige Zählung gezeichnet und erst nachträglich in einem Zuge alle Zeichnungen durch Bezifferung der Einzelchromosomen gezählt. Die Zählungen wurden nur an Zeichnungen durchgeführt, die aus freier Hand entworfen werden mußten, da die Kleinheit der Objekte den Gebrauch eines Zeichenapparates unmöglich machte. Somatische Teilungen zog ich nur sehr vereinzelt und grob schätzungsweise zu Zählungen heran. Die Ergebnisse dieser Zählungen standen mit den anderwärts gefundenen Zahlenwerten im Einklang.

Beschreibung der einzelnen Arten

Tilia platyphyllos

An diesem Objekte wurden hauptsächlich Metaphasen des ersten und zweiten Teilungsschrittes der Reduktion gezählt. Es ergab sich ein Mittelwert von 40 Chromosomen; auch in den Anaphasen des zweiten Teilungsschrittes, also an „Tetraden“, konnte dies festgestellt werden. Daraus ergibt sich, daß zirka 40 als die Haploidzahl anzusprechen ist.

Tilia cordata

Hier mußten wegen der außerordentlichen Verklebungsfähigkeit im größeren Umfang Diakinese-stadien zur Zahlenfeststellung herangezogen werden. Während an Metaphasen manchmal auch die Zahl 40 auftrat, konnte an zahlreichen Diakinese-stadien nachgewiesen werden, daß sich hier die Chromosomenzahlen um 36 als Mittelwert gruppieren. Einige zählbare Anaphasen des zweiten Teilungsschrittes konnten auch hier beweisen, daß zirka 36 die haploide Chromosomenzahl ist.

Tilia argentea

Von dieser Art lagen die schönsten und am leichtesten analysierbaren Metaphasen des ersten und zweiten Reduktionsteilungsschrittes vor. Während bei den anderen Arten die „Individualisierung“ der Einzelchromosomen oft Schwierigkeiten verursachte, konnten hier Meta- und Anaphasen eindeutig gezählt werden. Es ergab sich hier als Mittelwert und Haploidzahl wieder zirka 40.

Zusammengestellt zeigen die drei Arten also:

Tilia platyphyllos zirka 40 Chromosomen,

Tilia cordata zirka 36 Chromosomen und

Tilia argentea zirka 40 Chromosomen.

3. Die Größe der Chromosomen

TISCHLER (1921/22) gibt in einer Zusammenfassung über Kerngrößen einige Maße für Kerne in Blatthaaren und in Gallenbildungen von *Tilia* spec. (nach KÜSTER) an, wie folgt:

Blatthaar 4 bis 5 μ , Blatthaar „Erineum“ (Milbenkrankheit) 9 bis 12 μ , ja 14,5 μ .

Im Vergleiche mit den anderen dort angegebenen Kerngrößen erweisen sich die *Tilia*-Kerne als relativ ziemlich klein.

Die annähernd gleichen Chromosomenzahlen, die bei *Tilia platyphyllos* und *Tilia argentea* und auch bei *Tilia cordata* festgestellt wurden, ließen mich einige Messungen über Kern- und Chromosomengröße der drei Arten anstellen. Gemessen wurden außer Kerndurchmesser in der Diakinese auch der Äquatorplattendurchmesser der ersten und zweiten Metaphase und schätzungsweise die Chromosomengröße dieser Stadien. Alle diese Messungen wurden an den von mir hergestellten Präparaten vorgenommen, die Pollenkorndurchmesser an Herbarmaterial abgenommen.

Das Ergebnis dieser Messungen ist: Die Pollenkorndurchmesser, die Durchmesser des Diakinesekernes wie die Metaphasendurchmesser in der ersten und zweiten Teilung und die Chromosomengröße zeigen bei allen drei Arten sehr übereinstimmende Größenverhältnisse an. Diese Er-

gebnisse bestätigt auch die praktische Erfahrung; die Größenverhältnisse der obgenannten Durchmesser können keine Erkenntnis vermitteln, um welche von den drei Arten es sich im Einzelfalle handelt. Allein die Chromosomen der *Tilia argentea* sind etwas größer als die der beiden anderen Arten.

Betont mag noch sein, daß auch die Chromosomengröße von der Fixiermischung abhängig zu sein scheint. JUELSche Mischung und Alkohol-Eisessig bringen grob ausgedrückt „gequollene“ Chromosomen, deren Grenzen sich unscharf vom Plasma abheben und deren Volumen unter Verminderung der Dichte zugenommen hat, während die FLEMMINGSche Mischung kleinere Chromosomen beobachten läßt, die mit scharfem Rande sich von der Umgebung abheben.

4. Deutung der gefundenen Tatsachen

Die in der Morphologie aufgedeckte große Ähnlichkeit der drei Arten findet ihr Analogon auch im zytologischen Verhalten. Eine weitgehende Übereinstimmung auch in karyologischer Hinsicht festgestellt zu haben, stellt ein Hauptergebnis der vorliegenden Arbeit dar. Die Form der Chromosomen ist bei allen drei Arten die gleiche, ähnlich verhalten sich die Chromosomengrößen zu einander, allein die Zahlenwerte scheinen auf eine Verschiedenheit hinzudeuten, obwohl auch hier die vermutete Polyploidie nicht nachgewiesen werden konnte.

Verschiedene Arbeiten haben schon dargetan, daß auch eine geringfügige Veränderung im Chromosomenbestand einer Gattung schon ganz bedeutende Unterschiede in den Organisationsmerkmalen bedingen kann. In eine Kategorie solcherart auftretender Heteroploidie wären auch die beschriebenen Lindenarten einzureihen. Beispiele ähnlich gearteter Verhältnisse liegen nach TISCHLERS Chromosomentafeln bei *Ribes*, *Calendula*, *Lupinus*, *Prunus* usw. vor.

Meine Angaben über die Chromosomenzahl bei *Tilia platyphyllos* treten in Gegensatz zu STENARS Feststellungen (1925), nach dessen Angaben dann TISCHLER die errechneten Haploidzahlen in seine Tafeln aufgenommen hat. STENARS Arbeit war eine embryologische Arbeit, in deren Rahmen die Feststellung der Chromosomenzahl nur als Nebenergebnis zu werten ist; sie gab die Chromosomenzahl für *Entelea palmata*, *Sparmannia africana* und *Tilia platyphyllos* an. Besonders die Angabe über *Tilia platyphyllos* hat STENAR selbst mit einem zweifachen Fragezeichen versehen: Zunächst hält er die einzige Platte, an der er die Feststellung durchgeführt hat, für triploid (es handelt sich dabei um einen Teilungsschritt im Embryosack), dann stellt er seine Angabe als für „approximativ geschätzt“ hin (mindestens 90 bis 100). Es liegt also nur eine einzige gezählte Feststellung vor, an einem Kerne, dessen Valenz nicht sichergestellt ist. Diese Angaben sind also wirklich höchst unsicherer

Natur, ihnen gegenüber bedürfen meine Feststellungen keiner weiteren Versicherung.

Die anderen Angaben, die STENAR über die Chromosomenzahlen bei Tiliaceen macht, sind sicherer: für *Entelea palmata* 8 und für *Sparmannia africana* zirka 80. Von einiger Bedeutung ist auch, daß STENAR in einem Falle bei *Sparmannia africana* 76 Chromosomen feststellen konnte.

Setzt man diese Angaben mit den von mir gefundenen Werten in Verbindung, so ergibt sich eine durch die Näherungsangaben allerdings noch recht unsichere Annahme, daß es sich innerhalb der Familie der Tiliaceen um eine Vervielfachung der Grundzahl 8 oder 4 handeln könnte.

Einem Entgegenkommen Prof. G. TISCHLERS verdanke ich Angaben über die Chromosomenzahlen in der Reihe der Columniferen, soweit sie bisher in der Literatur aufscheinen. Unter den Malvaceen findet sich die Zahl 20 (*Lavatera* und *Malva*), die Zahl 13 bzw. 26 (*Gossypium* sowie *Thespesia* und *Sidalcea*), die Zahl 21 (*Malvastrum*) und die Zahl 36 bzw. 60 (*Hibiscus*). Von den Sterculiaceen ist nur *Theobroma Cacao* mit der Zahl 8 bekannt. Es lassen sich also rein zahlenmäßige Beziehungen zwischen Tiliaceen, Malvaceen (*Lavatera*, *Malva*) und Sterculiaceen (*Theobroma*) aufzeigen, die mit der verwandtschaftlichen Stellung im System im Einklang zu bringen wären.

Zusammenfassung der Ergebnisse

1. Die Chromosomenform ist bei den drei untersuchten Lindenarten (*Tilia platyphyllos*, *Tilia cordata* und *Tilia argentea*) gleich: kugelig-ellipsoidisch, „punktförmig“, also Länge, Breite und Höhe ungefähr gleich.

2. Die Zahlen der Chromosomen wurden an der Reduktionsteilung in der Pollenmutterzelle festgestellt, es lassen sich nur Mittelwerte angeben, und zwar ist die Haploidzahl bei

Tilia platyphyllos zirka 40,

Tilia cordata zirka 36 und

Tilia argentea zirka 40.

3. Auch die Chromosomengröße ist bei allen drei Arten annähernd gleich, sie bewegt sich zwischen den Werten von $\frac{1}{2}$ bis 1μ .

4. Die Reduktionsteilung in der Pollenmutterzelle erfolgt bei allen drei Arten in der gleichen Weise und normal. Der Zeitpunkt der homöo- bzw. heterotypen Teilung konnte nicht festgestellt werden.

5. Die Pollenzellbildung erfolgt nach dem simultanen (Dikotyledonen-) Typus und durch Einfurchung des Plasmas von der Peripherie her (Furchungstypus).

6. Die Tapetenzellen behalten unter der sezernierenden Tätigkeit, auf die Kernreichtum, Plasmadichte usw. hinweisen, ihren zelligen Aufbau bei, bilden also kein Periplasmodium.

Literatur

- Bleier H., 1925. Chromosomenstudien bei der Gattung *Trifolium*. Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. 64.
- Hartmann M., 1927. Allgemeine Biologie. Jena.
- Heitz E., 1926. Der Nachweis der Chromosomen. Vergleichende Studien über ihre Zahl, Form und Größe im Pflanzenreiche. Zeitschr. f. Bot., Jahrg. 18.
- Jaccard P., 1927. *Tiliaceae*, unter Mitwirkung von A. FREY bearbeitet, in KIRCHNER O., LOEW E., SCHRÖTER C., Lebensgeschichte der Blütenpflanzen Mitteleuropas. Lieferung 31/32.
- Juel H., 1915. Untersuchung über die Auflösung der Tapetenzellen in den Pollensäcken der Angiospermen. Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. 56.
- Netroufal F., 1927. Zytologische Studien über die Kulturrassen von *Brassica oleracea*. Österr. Bot. Zeitschr., Jahrg. 76.
- Prankerdt T., 1915. Notes on the occurrence of Multinucleate Cells. Annals of Botany, Vol. 29.
- Ruys J. D., 1925. Énumération des plantes phanérogames angiospermes examinées au point de vue de la Karyologie. Leiden.
- Schnarf K., 1928. Embryologie der Angiospermen. In K. LINSBAUERS Handbuch der Pflanzenanatomie.
- Schürhoff P. N., 1926. Die Zytologie der Blütenpflanzen. Stuttgart.
- Solereider H., 1899. Systematische Anatomie der Dikotyledonen.
- , 1908. Ergänzungsband.
- Stenar A. H., 1929. Embryologische Studien I: Zur Embryologie einiger Columniferen. Akad. Abhandl. Upsala.
- Tischler G., 1918. Untersuchungen über den Riesenwuchs von *Phragmites communis* var. *Pseudodonax*. Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., Bd. 36.
- , 1921/22. Allgemeine Pflanzenkaryologie. In K. LINSBAUERS Handbuch der Pflanzenanatomie, Bd. 2. Berlin.
- , 1927. Pflanzliche Chromosomenzahlen. In Tabulae Biologicae, Bd. IV.
- Vokolek H., 1926. Über Riesenwuchs bei einigen Formen der Gattung *Primula*. Zeitschr. f. ind. Abst.- u. Vererbungslehre, Bd. XL.
- Wettstein Fr. v., 1927. Die Erscheinungen der Heteroploidie besonders im Pflanzenreich. Ergebnisse der Biologie, Bd. II. Berlin.

Der mikrochemische Nachweis der Alkaloide in der Pflanze

XIV. Der Nachweis von Cytisin

Von

Gustav Klein (Wien) und Elisabeth Farkass (Wien)

(Aus dem Pflanzenphysiologischen Institut der Universität Wien)

(Mit 3 Textabbildungen)

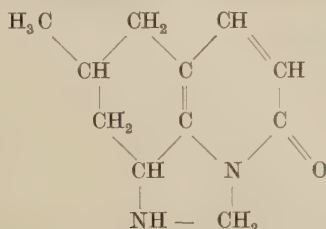
Das Cytisin, $C_{11}H_{19}N_2O$, ein stark giftiges, brecherregendes Alkaloid, wurde im Jahre 1864 von HUSEMANN und MARMÉ im Samen von *Cytisus laburnum* L. (= *Laburnum anagyroides* Med.) aufgefunden.

Es kann aus den Samen von *Laburnum anagyroides* mit einer Ausbeute bis ca. 1,5% dargestellt werden. Geringere Mengen wurden erhalten bei der Darstellung aus Blattdroge von *Laburnum anagyroides* (0,3%) und aus der Blütendroge (0,2%).

Später wurde es in den Samen einiger anderer *Cytisus*-Arten gefunden, ebenso in *Anagyris foetida* neben Anagyrin. Das Ulexin aus *Ulex*, Sophorin aus *Sophora* und Baptitoxin aus *Baptisia* sollen mit dem Cytisin identisch sein¹.

Über das Cytisin sind seit seiner Auffindung zahlreiche Arbeiten erschienen, die wichtigsten sind die von PARTHEIL, FREUND, EWINS und besonders von SPÄTH².

SPÄTH stellt als wahrscheinlichste Konstitutionsformel folgende auf:



Der Zusammenhang dieser Konfiguration mit der Aminosäure Leucin ist für den Physiologen sehr interessant.

Um einen eindeutigen mikrochemischen Nachweis des Cytisins in der Pflanze führen zu können, wurde zunächst das mikrochemische Verhalten der reinen Substanz studiert.

Arbeiten mit der reinen Substanz

Zum Zwecke einer späteren möglichst quantitativen Isolierung des Alkaloides aus dem Gewebe wurden zuerst Löslichkeitsverhältnisse und Sublimationsfähigkeit von reinem Cytisin (freie Base) überprüft.

Löslichkeitsverhältnisse.

Cytisin ist schon in der Kälte leicht löslich in Wasser, Methyl- und Äthylalkohol, Ammoniak, in verdünnten Säuren (5% HCl, 2% H_2SO_4 , 2% HNO_3) und Alkalien (5% Natronlauge, 5% Natriumbikarbonat).

Beim Erwärmen löst es sich in Chloroform, Amylalkohol, Eisessig, Azeton.

Unlöslich oder fast unlöslich ist es in Äther und Benzol.

Besonders gut löst es sich in einer Mischung von Chloroform mit Ammoniak (auf 9 Teile Chloroform 1 Teil Ammoniak).

Mikroschmelzpunktbestimmung.

Den Mikroschmelzpunkt von reinem Cytisin stellten wir am Mikroschmelzpunktsapparat nach G. KLEIN³ bei 154° fest.

Der Mikroschmelzpunkt ist in der Literatur bei 151° bis 152° angegeben.

Sublimationsfähigkeit.

Die Sublimationsfähigkeit prüften wir sowohl nach dem einfachen Ringverfahren als auch im Vakuum-Sublimationsapparat nach KLEIN⁴.

Sublimate, die wir bei vorsichtiger Behandlung am Ring erhielten, zeigten einen Mikroschmelzpunkt von 155°, waren also unzersetztes Cytisin.

Im Vakuumsublimationsapparat findet Sublimation ab 130° statt. Sublimate, die im Temperaturintervall von 130° bis 160° gewonnen wurden, zeigten Mikroschmelzpunkte von durchschnittlich 152° bis 153°, sind also unzersetztes Cytisin.

Mit steigender Sublimationstemperatur sinkt der Schmelzpunkt des Sublimates, offenbar wegen fortschreitender Zersetzung. So stellten wir bei einem Sublimat, das bei 180° gewonnen war, einen Schmelzpunkt von 140° fest, bei einem bei 200° gewonnenen Sublimat, einen Schmelzpunkt von 135°. Außerdem unterscheiden sich bei höherer Temperatur gewonnene Sublimate in der Kristallform auffällig von den zwischen 130° und 160° gewonnenen.

Reaktionen

Als Reagentien wurden mit reinem Cytisin mikrochemisch überprüft:

Zunächst alle aus der Literatur bekannten Reagentien: Ferrichlorid, Goldchlorid, Platinchlorid und -Jodid, Jodlösung, Kaliumferrocyanid und die VAN MOERSEHE Reaktion mit Wasserstoffsuperoxyd⁵⁻¹¹.

Sie haben sich aber mikrochemisch nicht bewährt.

Dann untersuchten wir Edelmetallsalze und eine Anzahl Reagentien verschiedener chemischer Klassen.

Die Reaktionen wurden mit wässriger, bzw. alkoholischer Lösung von Cytisin in Verdünnungsreihen von 1:100 bis zu 1:100 000 aufgestellt, jedesmal unter Glassturz und parallel dazu in einer feuchten Kammer.

Der Reagenstropfen wurde stets genau so groß wie der Reaktionstropfen bemessen.

Platinsalze

Platinchlorid (10%).

Es zeigten sich nach 12 Stunden reich verzweigte Kristalle. Die Empfindlichkeit überschreitet nicht 1:2000.

Platinbromid (10%).

Die Reaktion tritt verhältnismäßig rasch und deutlich ein. Bei den Verdünnungen von 1:100 bis 1:20 000 zeigen sich ganz feine gelbbraune Prismen, die in Bäumchen und Sternen gelagert sind (s. Abb. 1). In den höheren Verdünnungen finden sich bloß Einzelkristalle.

Die Empfindlichkeitsgrenze dieser charakteristischen Reaktion liegt bei 1:100 000. Die Nadeln sind stark dichroitisch und zeigen gerade Auslöschung.

Platinjodid (10%).

Die einfache Lösung ergab bloß eine amorphe

Fällung, darum verwendeten wir eine Mischung von 10% igem Platinchlorid, 5% igem Natriumjodid und 2½% iger Salzsäure. Wir erhielten nun in der trockenen und in der feuchten Kammer große und kleine Büschel von stahlblauen bis schwarzen Kristallen (siehe Abb. 2). Die Reaktion zählt zu den charakteristischsten. Empfindlichkeitsgrenze bei 1:40 000.

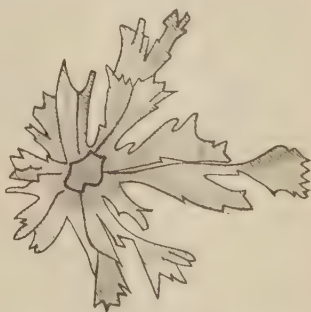


Abb. 1. Reaktionsprodukt des Cytisins mit Platinbromid; zirka 50fach vergrößert



Abb. 2. Reaktionsprodukt des Cytisins mit Platinjodid; zirka 50fach vergrößert

Platinrhodanid (10%).

Die Reaktion tritt sehr schnell ein und zeigt Sterne, die aus feinen gelben Prismen bestehen, aber in steter Umlagerung begriffen sind. Sie sind leicht zersetzlich. Sie haben schwachen Dichroismus und gerade Auslöschung. Empfindlichkeitsgrenze bei 1:20000.

Goldsalze**Goldjodid und Goldchlorid (10%).**

Beide Reagentien ergaben bloß ganz kleine Skelettformen, deren Empfindlichkeitsgrenze 1:200 nicht überstieg. Sie sind deshalb gänzlich ungeeignet.

Goldbromid (10%).

Die reine Lösung ergab wie bei Platinjodid eine amorphe Fällung. Darum verwendeten wir eine Mischung von 10% igem Goldchlorid, 10% igem Natriumbromid und 5% iger Salzsäure. Wir erhielten nun dunkelorange bis braune Nadeln, mit starkem Dichroismus und gerader Auslöschung, die sowohl einzeln als auch in Garbenform auftreten können. Die Empfindlichkeitsgrenze liegt bei 1:20000.

Silbersalze

Wir prüften Silbernitrat, Silbersulfat und Silberlaktat. Keines der drei Salze zeigte ein verwertbares Kristallprodukt.

Palladiumsalze**Palladiumchlorür (5%).**

Die Empfindlichkeitsgrenze dieser wenig charakteristischen Reaktion liegt bei 1:200.

Palladiumjodid (5%).

Charakteristische, stahlblaue Nadeln, die sehr stark an die Reaktion mit Platinjodid erinnern. Empfindlichkeitsgrenze bei 1:30000.

Jodsalze**Jodjodkalium nach Lugol.**

In der trockenen Kammer bis 1:200 eine amorphe, violette Fällung.

Jodwasserstoffsäure.

Gibt bloß in der feuchten Kammer bis 1:200 eine feine kristallinische Fällung.

Kaliumkadmium- und Kaliumquecksilberjodid.

Diese Reagentien geben bis 1:200 eine milchige Trübung, die nach einigen Stunden in eine mehr oder weniger kristallinische Fällung übergeht.

Chlorzinkjod.

Es gibt in der trockenen Kammer eine hell- bis kaffeebraune, amorphe Fällung. Empfindlichkeitsgrenze bei 1:200.

Kaliumantimonjodid.

Schöne, braune, unverzweigte Sterne, die schwachen Dichroismus und gerade Auslöschung zeigen. Empfindlichkeitsgrenze bei 1:30000.

Kaliumwismutjodid.

Die Reaktion ist äußerst charakteristisch, aber bloß in konzentrierteren Lösungen anwendbar. Schwarze Sterne mit fransigen Enden. Sie zeigen schwache Interferenz und schwach schiefe Auslöschung. Empfindlichkeitsgrenze bei 1:2000.

Jodtinktur (10%).

Bäumchenartige Verzweigungen, die unbeständig sind. Empfindlichkeitsgrenze bei 1:10000 (in Alkoholammer).

Elementares Jod.

Die Reaktion wird folgendermaßen durchgeführt: Das elementare Jod wird in ein Schälchen gegeben und ein Deckgläschen mit einem Tropfen der zu prüfenden Lösung darüber gestülpt. Die Dämpfe wirken sehr schnell und intensiv. Die Reaktion zeigt hell- bis dunkelgelbe Figuren, die Prismen und Würfeln ähnlich sind. Schwacher Dichroismus und schwach schiefe Auslöschung. Empfindlichkeitsgrenze bei 1:2000.

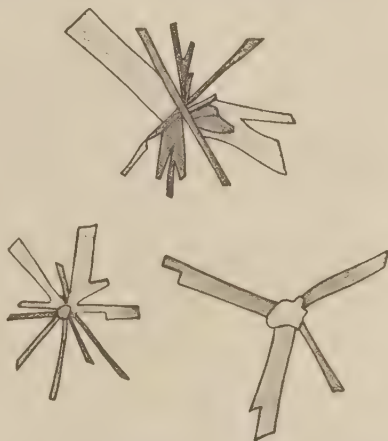


Abb. 3. Reaktionsprodukt des Cytisins mit Kaliumtrijodid nach BERTHAUMÉ; zirka 50fach vergrößert

Kaliumtrijodid nach STAŇEK.

Die Reaktion ist wenig charakteristisch. Sie zeigt ganz verschiedene Formen, kleine Kügelchen, dann Prismen und zusammengesetzte Figuren. Empfindlichkeitsgrenze bei 1:20000.

Kaliumtrijodid nach BERTHAUMÉ.

Diese Reaktion gehört zu den charakteristischsten und empfindlichsten. Schöne, tiefbraune Sterne, die aus Prismen zusammengesetzt sind; in den höheren Verdünnungen einzelne Prismen. Gerade Auslöschung. Empfindlichkeitsgrenze bei 1:100000 (siehe Abb. 3).

Bromsalze

Zur Prüfung verwendeten wir außer den schon erwähnten Platinbromid und Goldbromid, auch Kaliumbromid, Bromwasser, Brom-Bromkali, sowie elementares Brom.

Keinerlei Reaktionen zeigten Kaliumbromid, Brom-Bromkali und Bromwasser.

Elementares Brom.

Die Reaktion wurde ähnlich wie jene mit elementarem Jod ausgeführt. Empfindlichkeitsgrenze bei 1:2000.

Kupfersalze

Zur Prüfung gelangte 5% Kupfersulfat, dann 10% Kupferazetat. Beide Reagentien ergaben keinerlei Reaktion.

Quecksilbersalze

Zur Prüfung verwendeten wir 10% Quecksilberchlorid, in wässriger und in alkoholischer Lösung, dann Merkurinitrat, Merkuriazetat, Quecksilbersulfat und Merkuriazetat mit Soda.

Keinerlei Reaktion zeigten die beiden Quecksilbersulfate, Merkuriazetat, Merkuriazetat mit Soda, Merkurichlorid in alkoholischer (96%) Lösung.

Merkurichlorid (6 bis 7% wässrige Lösung).

Die Reaktion ist ziemlich uncharakteristisch und unempfindlich. Sie zeigt in der trockenen Kammer einen fein-kristallinen Niederschlag, der sich nach einigen Stunden in Bäumchen und kleine Büschel umlagert. Empfindlichkeitsgrenze bei 1:200.

Ein Zusatz von 2½% Salzsäure ändert an der Reaktion nichts.

Sonstige Metallsalze

Von anderen Salzen verwendeten wir: die Sulfate von Kobalt, Nickel, Thallium und Strontium; dann Kaliumferro- und Kaliumferricyanid, mit und ohne 5% Salzsäure, Kaliumkupferbleinitrit, Kalziumazetat, Cyankalium, Natriumnitrit, Seignettesalz, Kaliumchromat, Kaliumbichromat und Kobaltchlorid. Alle diese Reagentien ebenso Weinsäure und Perchlorsäure ergaben keine brauchbaren Produkte.

Nitrokörper

Wir verwendeten Pikrinsäure, Pikrolonsäure, Dinitro- α -Naphtol, Trinitrobenzoesäure, p- und m-Nitrobenzoesäure, p-Nitrophenylpropionsäure, 2-4-6-Trinitroresorzin, β -Naphthalinsulfosäure und Trinitro-m-Kresol.

Die Reaktionen mit den Nitrokörpern wurden nicht mit Reagenslösungen, sondern mit Reagens in fester Form ausgeführt, indem in die Cytisn-lösungen mit der Präpariernadel einige Reagenskriställchen eingetragen und verteilt wurden. Die stärkste Verdünnung bei der eben noch Reaktion eintritt, ergibt dann ohne weiteres die Empfindlichkeitsgrenze.

Pikrinsäure.

Die Reaktion mit Pikrinsäure zeigt schöne Kristalle von guter Ausbildung, starkem Dichroismus und gerader Auslöschung. Häufig ganz kleine Kristalle, die zu Büscheln vereinigt sind. Sehr charakteristisch. Empfindlichkeitsgrenze bei 1:100000.

Pikrolonsäure.

Feine, gelbe Prismen, entweder allein, oder nach einiger Zeit zu mehr oder weniger regelmäßigen Sternen vereinigt. Empfindlichkeitsgrenze bei 1:5000.

2-4-6-Trinitroresorzin.

Ziemlich breite Prismen von gelber Farbe. Sie sind immer in Blatt- oder Bäumchenform angeordnet. Gerade Auslöschung, schwacher Dichroismus. Empfindlichkeitsgrenze bei 1:1000.

Meta-Nitrobenzoësäure.

Die Reaktion ist uncharakteristisch und unempfindlich. Empfindlichkeitsgrenze bei 1:100.

Para-Nitrobenzoësäure.

Weiß, derbe Kristalle, die in Rosettenform angeordnet sind und einen Dichroismus von weiß zu blau zeigen. Sie haben eine schiefe Auslöschung von 40°. Empfindlichkeitsgrenze 1:15 000.

Dinitro- α -Naphthol.

Kleine braune Kugeln, die einzeln oder zu mehreren gehäuft auf den noch nicht gelösten Reagenskristallen aufsitzen. Empfindlichkeitsgrenze bei 1:5000.

Trinitro-m-Kresol.

Die Reaktion ist äußerst undeutlich. Empfindlichkeitsgrenze bei 1:100.

1-3-5-Trinitrobenzoësäure.

Feine, weiße Nadeln mit gerader Auslöschung und schwachem Dichroismus. Empfindlichkeitsgrenze bei 1:5000.

Keinerlei Reaktion zeigten 2-4-6-Trinitrobenzoësäure, β -Naphthalinsulfosäure und p-Nitrophenylpropionsäure.

Chloranil

Chloranil (Tetrachlorchinon) gelöst in Benzol, gibt mit Cytisin ein Reaktionsprodukt in Form von mattgrünen Prismen und fast weissen Blättern und Büscheln mit gerader Auslöschung und starkem Dichroismus. Empfindlichkeitsgrenze bei 1:500.

Übersicht der Reaktionen

Reagens	Farbe	Form	Empfindlichkeit 1 : x	Auslöschung*
Platinchlorid	gelborange	Bäumchen	2000	
Platinbromid	gelborange	Sterne	100 000	
Platinjodid	schwarz	Sterne	40 000	
Goldechlorid	orange	Körnchen	200	
Goldjodid	braun	amorph	200	
Goldbromid	dunkelorange	Nadeln	20 000	

* | = gerade Auslöschung.
/ = schiefe

Reagens	Farbe	Form	Empfind- lichkeit 1 : x	Aus- lö- schung*
Platinrhodanid	gelb	Sterne	10 000	
Lugolsche Lösung	violett	amorph	200	
Jodwasserstoffsäure	violett	Körnchen	200	
K-Cd-Jodid	hellgrau	amorph	200	
K-Hg-Jodid	weiß	amorph	200	
Chlorzinkjod	kaffeebraun	amorph	200	
K-Bi-Jodid	dunkelbraun	Sterne	2 000	/
K-St-Jodid	braunschwarz	Sterne	20 000	
Jod	gelbbraun	amorph	2 000	/
Jodtinktur	hellbraun	kristallinisch	10 000	
Palladiumjodid	stahlblau	Sterne	30 000	
Kaliumtrijodid	braun	Prismen	100 000	
(BERTHEAUMÉ)				
Kaliumtrijodid	schwarz	Sterne	20 000	
(STAÑEK)				
Brom	braun	amorph	2 000	
Hg-Chlorid	weiß	kristallinisch	200	
Pikrinsäure	gelb	feine Nadeln	100 000	
Pikrolonsäure	gelb	feine Nadeln	5 000	
Trinitroresorzin	gelb	feine Nadeln	1 000	
m-Nitrobenzoësäure	hellgelb	amorph	100	
Dinitro- α -Naphtol	braun	Kugeln	5 000	
Trinitro-m-Kresol	hellbraun	amorph	100	
Trinitrobenzoësäure	weiß	feine Prismen	5 000	
Palladiumchlorid	braun	amorph	2 000	
p-Nitrobenzoësäure	weiß	Rosetten	15 000	/

Bei zusammenfassender Betrachtung aller verwendeten Reaktionen läßt sich feststellen:

Cytisin ist wenig reaktionsfähig. Empfindliche Reaktionen geben bloß Platinbromid, Platinjodid, Pikrinsäure und Kaliumtrijodid. Alle anderen Reagentien geben nur bei hohen Cytisinkonzentrationen gut ausgebildete Kristalle. Bei höheren Konzentrationen kann man noch mit Erfolg Goldbromid verwenden. Eine Verwendung der fünf empfohlenen Reaktionen nebeneinander gestattet eine sichere Schätzung der im Lösungstropfen vorliegenden Cytisinmenge und schließt Fehler, die sich bei der Abschätzung aus einer Reaktion ergeben, aus.

Die im folgenden Kapitel angegebenen Mengenschätzungen

* | = gerade Auslöschung.
/ = schiefe

wurden nach dem Ausfall der Kaliumtrijodidreaktion vorgenommen und durch die anderen Reaktionen kontrolliert.

In 0,1 ccm Cytisinlösung — soviel wurde jeweils zur Reaktion verwendet — sind bei einer Verdünnung 1:50000 ... 2 γ Cytisin enthalten.

Beim Hinzufügen einer gleichen Menge Reagens werden diese 2 γ durch Platinbromid bzw. durch Kaliumtrijodid noch angezeigt (entsprechend der Empfindlichkeitsgrenze 1:100000). Bei Verwendung von Pikrinsäure in fester Form greift man in 0,1 ccm Lösung (entsprechend der Empfindlichkeitsgrenze 1:100000) noch 1 γ Cytisin. Da man auch leicht geringere Mengen als 0,1 ccm zur Reaktion verwenden kann, gelingt es, mittels der Pikrinsäure auch Bruchteile von 1 γ zu erfassen. Für unsere histochemischen Zwecke bezeichnen wir den Reaktionsausfall mit Kaliumtrijodid bei der Verwendung von 0,1 ccm Lösung 1:30000 mit +.

Diese Verdünnung entspricht einer absoluten Menge von 3 γ .

++	bedeuten (Reaktion mit 0,1 ccm Lösung)	1:20000	=	5 γ
+++	„ „ „ 0,1 „ „	1:10000	=	10 γ
++++	„ „ „ 0,1 „ „	1:5000	=	20 γ
+++++	„ „ „ 0,1 „ „	1:1000	=	100 γ
++++++	„ „ „ 0,1 „ „	1:500	=	200 γ

Die Mengen (++):(+++):(++++):(+++++):(++++++) verhalten sich wie 1:2:4:20:40. Ein besonders großer Sprung liegt also zwischen der Mengenangabe ++++ und +++++. Mit +++++ bezeichnen wir die fünffache Menge wie mit ++++.

Bei einer Mengenangabe + muß also die Kaliumtrijodidreaktion schon sehr deutlich sein, ebenso die Reaktion mit Platinbromid. Relativ noch stärker muß die Pikrinsäurereaktion ausfallen. Platinjodid und Goldbromid dürfen noch keinen Niederschlag geben.

Bei ++ fällt die Platinjodidreaktion gerade noch positiv aus. Bei +++ auch schon die Goldbromidreaktion. Die anderen Reaktionen werden natürlich entsprechend mehr Kristalle des Reaktionsproduktes erkennen lassen.

Das Vorkommen von Thioharnstoff

Bei der Prüfung von Extrakt etwa eine Woche alter Keimlinge traten sowohl mit Platinjodid, als auch mit Platinbromid bisweilen an der Stelle der bekannten Formen des Cytisinreaktionsproduktes ganz andere Formen (mit Platinjodid: schwarze, metallisch glänzende Sternchen und am Rande des Deckglases gelbe, polyedrische Kristalle, mit Platinbromid: dunkelgelbe bis orange Prismen) auf. Da uns für *Laburnum* im Keimlingsstadium das Vorkommen von Harnstoff bzw. Ureiden bekannt ist¹¹, prüften wir die mikrochemische Reaktionsfähigkeit der Platinsalze mit Harnstoff, einer Reihe von Ureiden und verwandter Körper.

Harnstoff und Ureide geben mit Platinjodid keine Reaktion, ebenso wenig mit Platinbromid. Dagegen trat mit Thioharnstoff Reaktion ein. Das Reaktionsprodukt zeigte die schon im Extrakt aufgefallenen fraglichen Formen. Zur Kontrolle dieses ersten Befundes verwendeten wir die Thioharnstoffreaktion mit Palladiumchlorür⁶. Tatsächlich fiel auch diese Reaktion im Extrakt positiv aus. Zur weiteren Kontrolle zogen wir die Fällung von Thioharnstoff bzw. Thioureiden mit Xanthhydrol¹³ heran. Für diese Reaktion wird mit Eisessig oder Alkohol-Eisessig (1:1) extrahiert und im hohlen Objektträger oder Spitzröhrchen wenig festes Xanthhydrol zugesetzt. Das Reaktionsprodukt wurde im Mikroschmelzpunktapparat identifiziert. Übereinstimmend mit früheren Angaben hatten wir — ohne ersichtliche gesetzmäßige Regelmäßigkeit — positiven Reaktionsausfall in verschiedenen Keimlingsstadien und Organen älterer Pflanzen. Von den Reaktionsprodukten erwiesen sich die meisten bei der Identifizierung als Harnstoff- bzw. Ureidprodukte¹⁴.

Bisweilen trat auch neben den Ureidprodukten oder auch allein ein Produkt auf, das durch seinen tiefen Zersetzungspunkt (200°), die gelbe Färbung bei der Zersetzung und besonders durch den dabei auftretenden charakteristischen Schwefeldioxydgeruch auffiel. Diese Eigenschaften treten auch bei den Xanthhydrolprodukten von Thioharnstoff und Thioureiden auf. Dixanthyl-Thioharnstoff hat den Zersetzungspunkt bei 220°, die entsprechenden Ureidverbindungen etwa um 200°. Nach der Mikroreaktion zu urteilen scheint also Thioureid und nicht Thioharnstoff vorzuliegen.

Immerhin erscheint durch die Mikroreaktionen das Vorkommen von **Thioharnstoff** in der Pflanze eindeutig und zum ersten Male erwiesen.

Für Goldregen läßt sich sagen, daß in manchen Stadien neben oder an Stelle von Harnstoff Thioharnstoff oder Thioureid auftreten kann.

Wo eine Trennung von Cytisin und Thioharnstoff notwendig erscheint, kann man mit Alkoholeisessig extrahieren, den Thioharnstoff mit Xanthhydrol fällen und im Filtrat Cytisin nachweisen.

Untersuchungen an der Pflanze

Nach der Ausarbeitung verlässlicher mikrochemischer Reaktionen konnte an den Versuch, Cytisin in der Pflanze nachzuweisen, geschritten werden.

Eine geeignete histochemische Methode, die wir später allgemein anwendeten, erprobten wir am ruhenden Samen, der nach verschiedenen Autoren (ROSENTHALER, TUNMANN, WEHMER) bis 1,5% Cytisin enthalten soll.

Lufttrockene Samen wurden fein gepulvert und Portionen von je

0,2 g Samenpulver im Mikroextraktionsapparat mit je 5 ccm unserer verschiedenen Lösungsmittel eine Stunde lang extrahiert.

Es wurden erprobt: Wasser, 5% Salzsäure, 5% Weinsäure, 10% Ammoniak, Chloroformammoniak (9:1), 5% Natronlauge, Chloroform mit Natronlauge, Chloroform allein, Methyl- und Äthylalkohol, Äthylalkohol mit 5% Weinsäure. Die Extrakte wurden durch kleine Filter filtriert, in kleinen Porzellantieglern eingedampft, mit Wasser aufgenommen und ein Tropfen davon mit folgenden Reagentien geprüft: Platinjodid, Platinbromid, Platinrhodanid, Kaliumtrijodid nach BERTHEAUMÉ, Pikrinsäure, Kaliumantimonjodid und Palladiumjodid.

Am besten fielen die Reaktionen nach Extraktion mit Chloroformammoniak (9:1) aus. Eine einstündige Extraktionszeit ist erschöpfend. Wenn man das Extraktionsgut noch einmal extrahiert, ist im zweiten Extrakt Cytisin nicht mehr nachweisbar.

Als Reagenzien ganz ungeeignet erwiesen sich: Platinrhodanid, Kaliumantimonjodid und Palladiumjodid.

Der Same ergibt nach Extraktion mit Chloroformammoniak +++++.

Auf Grund der Ergebnisse beim Samen entschieden wir uns für die weiteren mikrochemischen Untersuchungen für folgenden Aufarbeitungsgang:

Ausgangsmaterial: 0,2 g Trockengewicht, Extraktionsmittel: 5 ccm Chloroformammoniak (9:1), Extraktionsdauer: eine Stunde. Abdampfen, Rückstand mit 5 ccm Wasser aufnehmen. Je 1 ccm der Lösung prüfen mit: Kaliumtrijodid nach BERTHEAUMÉ, Platinbromid, Platinjodid, Goldbromid, Pikrinsäure. Beurteilung der Reaktion nach 5 bis 6 Stunden.

Für die Verwendung von trockenem Pflanzenmaterial konnten wir uns entscheiden, nachdem wir uns in mehreren Versuchen überzeugt hatten, daß rasches Trocknen im Trockenschrank bei 68° keinen Einfluß auf den Alkaloidgehalt der Gewebe hat.

Bei Keimlingen, bei denen sich das Frischgewicht zum Trockengewicht verhielt wie 5:1, verwendeten wir parallel 1 g Frischmaterial und 0,2 g Trockenmaterial zur Extraktion. Die Reaktion ergab in beiden Fällen positive Reaktion von gleicher Stärke.

Wir untersuchten auch von verschiedenen Rindenproben (Stammrinde, Astrinde, im Frühjahr und im Herbst) Extrakte aus frischem, rasch getrocknetem (Trockenschrank) und langsam getrocknetem Material. Die frischen und rasch getrockneten Proben zeigten die gleiche Alkaloidmenge, während die langsam getrockneten schwächere Reaktion gaben. Beim langsamen Trocknen ist das Cytisin also teilweise zerstört worden.

Mit der oben beschriebenen histochemischen Methode wurde nun ein breites Pflanzenmaterial untersucht, um die Verteilung des Alkaloides in den Organen der Pflanze festzustellen.

Dann wurde versucht, den Wandel dieses Alkaloides vom ruhenden Samen bis zur erwachsenen Pflanze, bzw. den Wandel des Cytisins innerhalb einer Vegetationsperiode zu klären.

Da immer häufiger festgestellt werden kann, daß ein gelegentlich in einer Pflanze aufgefundener und bisher als für diese Pflanze spezifisch gehaltener Stoff schließlich ziemlich weit verbreitet gefunden wird, wurden verwandte Species, zum Teil mit positivem Erfolg, auf Cytisin überprüft.

* * *

Verteilung des Cytisins in den Organen von *Laburnum anagyroides*

Wurzel:

Die Wurzel mehrjähriger Bäume führt während des ganzen Jahres: +++; im Herbst sinkt der Gehalt etwas ab.

Von einer drei Monate alten Pflanze wurden Haupt- und Nebenwurzel geprüft. Hauptwurzel: +++; Nebenwurzel: ++.

Die Nebenwurzel führt auffällig weniger Alkaloid als die Hauptwurzel. Diese zeigt außerdem neben der Cytisinreaktion nach einigen Stunden mit Kaliumtrijodid eine unbekannte Reaktion.

Stamm:

Es wurden Pflanzen von verschiedenen Standorten von Sonnen- und Schattenplätzen, zu verschiedenen Jahreszeiten untersucht.

Im Holz älterer Bäume kann man im Winter Spuren von Cytisin finden. Sonst ist das Holz alkaloidfrei.

Das Stämmchen einer drei Monate alten Pflanze (Holz und Rinde) ist negativ.

Bei der Untersuchung einer großen Zahl von Rindenproben zeigten sich folgende interessante Verhältnisse:

Die Rinde von Seitenästen unterscheidet sich nicht von der Rinde des Stammes.

Dagegen findet man in der Rinde von Sonnenexemplaren weit mehr Cytisin, als bei Schattenpflanzen. Die Durchschnittsmenge für Rinde beträgt: +++.

Das Periderm von Hauptstamm und Seitenästen bei Sonnen- und Schattenpflanzen gibt stets negativen Befund.

Blatt:

Die Blattspreite zeigt Schwankungen im Cytisingehalt, die mit dem Wechsel der Jahreszeiten zusammenhängen (siehe das folgende Kapitel). Allgemein kann man sagen, daß Blattspreiten von Schattenpflanzen alkaloidreicher sind, als die von Sonnenpflanzen. Beim Blatt liegen diese Verhältnisse also umgekehrt wie bei der Rinde.

Der Blattstiel ist stets negativ, auch der Blattstiel sehr cytisinreicher Blattspreiten.

Blüte:

Die Corollblätter sind reich an Cytisin, auffallend ist der Cytisinhalt der Kelchblätter. Die Kelchblätter sind cytisinreicher als die reichsten Laubblätter.

Im folgenden bringen wir zusammenfassend die Ergebnisse von Versuchen, in denen wir den Wandel des Cytisins von dem ruhenden Samen bis zur erwachsenen Pflanze verfolgten.

Ruhender Samen:

++++++! Dies entspricht etwa $1\frac{3}{4}\%$ Cytisin vom Trockengewicht.

Keimling:

Das Alter ist in Tagen, bzw. in Wochen nach dem Auskeimen des gequollenen Samens angegeben.

Ausgangsmaterial: ca. 0,1 g Trockengewicht (immer eine gleiche Anzahl von Keimlingen).

Alter:	Gefundene Menge:
1 Tag.....	+++++
2 Tage.....	+
3 Tage	—
4 Tage	+
7 Tage	+
9 Tage	++ ¹
2 Wochen	+++
3 Wochen	+++
4 Wochen	+++
6 Wochen	++++
8 Wochen	++++

Auch hier ließ sich, wie auch bei den meisten anderen untersuchten Alkaloiden, ein völliges Verschwinden der Base aus dem alkaloidreichen Samen in den ersten Tagen der Keimung feststellen.

Im Keimlingsstadium zeigt sich dann von der ersten bis zur sechsten Woche wieder ein Ansteigen des Alkaloidgehaltes von etwa 0,1% bis etwa 1% des Trockengewichtes, errechnet nach dem auf S. 115 gesagten.

Nach dem Keimlingsstadium, vom 3. Monat an, ist das Stämmchen der jungen Pflanze in allen Organen negativ und bleibt negativ während des ganzen ersten Jahres.

Die Laubblätter der jungen Pflanze sind positiv mit ++ und führen

¹ In diesen Stadien treten bei der Platinbromid- und Platinjodidreaktion oft Störungen auf (siehe S. 115, Thioharnstoff).

diesen Alkaloidgehalt bis in den Herbst (7 Monate alte Pflanze, untersucht am 27. Oktober 1929.)

Neben den selbstgezogenen, jungen Pflanzen wurde ein alter *Laburnum*-Baum während der Vegetationsperiode 1929 in allen Stadien und Organen untersucht.

Februar 1929	Holz (von Ästen verschiedener Dicke) .	+
	Rindenparenchym (vom Stamm) ...	+++
	Rindenparenchym (von Seitenästen).	+++
	Periderm (von Ästen verschied. Dicke).	—
20. April	Blatt (2 Tage alt).....	+
	Holz	—
	Rindenparenchym	+++
	Blatt (2 Wochen alt)	++
4. Mai	Blattstiel dazu	—
	Holz	—
	Rindenparenchym (von verschied. Pr.)	++
	Periderm (von verschiedenen Proben) .	—
17. Juni	Blütenknospen.....	++
	Blatt (8 Wochen alt)	+++_____++
	Blattstiel dazu	—
	Holz (verschiedene ältere Proben)	—
17. Juni	Rindenparenchym	++
	Periderm	—
	Blüten: Korollblätter	+____++
	Kelchblätter.....	++++++
an einem heurigen Trieb:		
26. Juni	Blatt.....	++
	Blattstiel	—
	Holz	+
	Rindenparenchym	++
Juli	Periderm.....	—
	Blatt.....	+++
	Blattstiele dazu	—
	Junge Früchte.....	+
Oktober	Etwas ältere Früchte.....	+
	Blatt.....	—
November	Holz	—
	Rindenparenchym	+
	Hülse.....	—
Dezember	Same	+++++++!
	Holz	—
Dezember	Rindenparenchym	+

Holz und Rinde sind während der ganzen Vegetationsperiode sehr stabil. Das junge Blatt führt bereits geringe Mengen von Cytisin, die dann zur beträchtlichen Quantität steigen (ca. 1% des Trockengewichtes). Im Herbst ist das Blatt alkaloidfrei. Auffällig ist der besondere Alkaloidreichtum der Kelchblätter. Die jungen Früchtchen führen noch wenig Cytisin, bei reifen Früchten ist die Hülse negativ, der Same positiv mit ++++++!

Verbreitung des Cytisins bei anderen Pflanzen

Im Bestreben, die Verbreitung des Cytisins wenigstens bei den wichtigsten mit *Laburnum anagyroides* verwandten Spezies und Gattungen festzustellen, wurden die in der folgenden Tabelle angeführten Pflanzen untersucht. Das Material stammte teils aus dem Botanischen Garten der Universität Wien, teils aus den Herbarien des Pflanzenphysiologischen Institutes der Universität Wien.

Die frischen Pflanzen wurden getrocknet. Für Untersuchung wurden je 0,2 g des Materials verwendet.

Pflanze	Organ	Gefundenes Cytisin
<i>Laburnocytisus Adami</i>	Rinde	—
	Kernholz	—
	Splintholz	—
	Blatt	—
<i>Cytisus purpureus</i>	Stamm	—
	Blatt	—
<i>Cytisus leiocarpus</i>	Stamm	—
	Blatt	—
	Blüte	+
<i>Cytisus multiflorus</i>	Blüte	++
	Stamm	—
<i>Cytisus versicolor</i>	Blatt	—
	Stamm	Spur
<i>Cytisus albus</i>	Stamm	—
	Blatt	—
<i>Cytisus ruthenicus</i>	Stamm	—
	Blüte	—
	Blatt	—
<i>Cytisus ratisbonensis</i>	Blüte	—
	Blatt	—
	Stamm	—
<i>Petteria ramentacea</i>	Blatt	—
	Stamm	—

Pflanze	Organ	Gefundenes Cytisin
<i>Genista tinctoria</i>	Stamm	—
	Blüte	—
	Blatt	—
<i>Genista radiata</i>	Blatt	Spur
	Stamm	—
<i>Genista ovata</i>	Blatt	Spur
	Stamm	—
<i>Genista pilosa</i>	Blatt	Spur
	Stiel	Spur
	Blüte	—
<i>Retama retam</i>	Stamm	—
	Stiel	Spur
<i>Ulex europaeus</i>	Blatt	—
	Stamm	—
<i>Sophora alopecuroides</i>	Blatt	+
	Stamm	++++!
<i>Sophora arborea</i>	Blatt	+
	Stamm	++
<i>Sophora flavescens</i>	Blatt	—
	Stamm	+
<i>Sophora japonica</i>	Blatt	—
	Stiel	—
	Stamm	+
<i>Baptisia tinctoria</i>	Wurzel	+++
<i>Baptisia exaltata</i>	Blatt	+++
	Stamm	++++
<i>Baptisia australis</i>	Blatt	+
	Stamm	++
<i>Baptisia leucantha</i>	Blatt	+
	Stamm	+++
<i>Thermopsis Fabri</i>	Blatt	—
	Stamm	—
<i>Caragana arborescens</i>	Blatt	—
	Frucht	—
<i>Gleditschia triacanthos</i>	Blatt	—
	Stamm	—
<i>Xanthoxylum americanum</i>	Blatt	—
	Stamm	—
<i>Barosma lanceolata</i>	Blatt	—
	Stamm	—

Bei den Gattungen *Petteria* und *Ulex* traten mit den angewandten Reagenzien andere Reaktionen auf. Der in Bezug auf Cytisin stets negative Befund bei *Ulex* spricht gegen eine Identität von Cytisin und Ulexin.

Es wurden also im Ganzen 28 Arten untersucht; 15 davon, und zwar durchwegs Papilionaceen, führten in irgend einem Organ Cytisin, nämlich:

Cytisus leiocarpus, *C. multiflorus*, *C. versicolor*,
Sophora alepecuroides, *S. arborea*, *S. flavescens*, *S. japonica*,
Baptisia tinctoria, *B. exaltata*, *B. australis*, *B. leucantha*,
Genista ovata, *G. radiata*, *G. pilosa*,
Retama retam.

Sicherlich läßt sich das Verzeichnis der Cytisin führenden Pflanzen bei weiterer Untersuchung noch vermehren.

Zusammenfassung

Das Cytisin läßt sich in der Pflanze histochemisch in geringster Menge und eindeutig nachweisen. Das Alkaloid wird mit Chloroformammoniak (1:9) extrahiert, als Reagentien haben sich am besten bewährt: Platinbromid (Empf. G. 1:100000), Platinjodid (1:40000), Kaliumtrijodid nach BERTHEAUMÉ (1:100000), Goldbromid (1:20000) und Pikrinsäure (1:100000), vor allem Kaliumtrijodid nach BERTHEAUMÉ.

Mit diesen Reaktionen ist es gelungen, die Verteilung des Cytisins in *Laburnum anagyroides* zu studieren und Anhaltspunkte über den Wandel dieses Alkaloides im Laufe einer Vegetationsperiode zu gewinnen. Schließlich wurde in einer Reihe von Arten und Gattungen Cytisin eindeutig festgestellt.

In *Laburnum* wurde zum erstenmal im Pflanzenreich Thioharnstoff gefunden.

Literatur

- ¹ Tschirsch A., Handbuch der Pharmakognosie, Leipzig (Tauchnitz) 1923, III, S. 733.
- ² Späth E., Zur Konstitution des Cytisins. Monatshefte f. Chem., 40, 15. 1919. — Synthese des Cytisolins. Monatshefte f. Chem., 40, 93, 1919.
- ³ Klein G., Ein bewährter Mikroschmelzpunktapparat. Mikrochemie (Pregl-Festschrift) 7, 192, 1929.
- ⁴ Klein G., Praktikum der Histochemie, Berlin (Springer), 1929.
- ⁵ Tunnmann, Pflanzenmikrochemie, Berlin (Borntraeger), 1913, 298.
- ⁶ Behrens-Kley, Org. mikrochem. Analyse, Leipzig (Voss), 1922, 219, 430.
- ⁷ Rosenthaler, Der Nachweis org. Verbindungen, Leipzig (Enke), 1914, 749.
- ⁸ Guerin P., Rech. sur la localisation de l'anagyrine et de la cytisine. Bulletin de la Soc. Botanique de France, XLII, 430, 1895.
- ⁹ Abderhalden, Biochem. Handlexikon, Berlin (Springer), 1911, 5 B, 119.
- ¹⁰ Pflugge und Rauchwerda, Über Cytisin und Ulexin. Arch. der Pharm., 230, 448, 1892; Arch. der Pharm., 232, 61, 1894.

- ¹¹ Freund und Gauff, Beitrag zur Kenntnis des Cytisins. Arch. der Pharm., 256, 33, 1918.
- ¹² Rosoll A., Über den mikrochem. Nachweis der Glykoside und Alkaloide in den veget. Geweben. 25. Jahresbericht des N. Ö. Landes-Realgymnasiums Stockerau, 1890, ref. in Bot. Zentralblatt, 1890, XLIV, 44.
- ¹³ Tauböck K., Nachweis und Physiologie des Harnstoffes in den höheren Pflanzen. Ö. B. Z., 76, 43, 1927.
- ¹⁴ Klein G. und Tauböck K., Physiologie des Harnstoffes in der höheren Pflanze II. Ö. B. Z., 76, 195, 1927.
— — Die Ureide in der höheren Pflanze. Ztschr. f. physiol. Chem., 1930, im Druck.

Fluoreszenzanalytische Untersuchungen an Pflanzen

Von

Gustav Klein (Wien) und Hans Linser (Wien)

(Aus dem pflanzenphysiologischen Institut der Universität Wien)

(Mit 6 Textabbildungen)

So wie man längst Spuren von Stoffen, besonders im Gemenge oder im Gewebe, auf mikrochemischem Wege erfassen lernte, werden jetzt in immer steigendem Maße auch physikalische und darunter besonders optische Methoden angewandt, um den Nachweis solcher Spuren zu ermöglichen. Zu diesen mikro-optischen Methoden gehört die Fluoreszenzanalyse, die auch in anderen Gebieten seit einigen Jahren immer mehr Beliebtheit erlangt.

Die Fluoreszenz beruht bekanntlich darauf, daß in gewissen Stoffen durch einstrahlendes, „erregendes“ Licht, Strahlung von anderer Wellenlänge erzeugt wird, sogenanntes Fluoreszenzlicht. Es entsteht im allgemeinen und für jede Substanz spezifisch durch die Strahlen von Blau, Violett und Ultraviolett, nicht jedoch durch jene von Grün, Gelb oder Rot; letztere löschen im Gegenteil sogar die Fluoreszenz aus. Die Feststellung und Messung der Fluoreszenzerscheinungen wurde bisher meistens auf mehr oder weniger primitive Art fast nur qualitativ, in letzter Zeit von G. KÖGEL²⁸⁻³⁰ sowie von französischer Seite^{15, 16} auch quantitativ durchgeführt. Erstere erfolgt visuell, letztere spektrophotographisch. Wir sind überzeugt, daß die richtige Auswertung der quantitativen photometrischen Methoden für analytische und spezielle biologische Fragen wertvolle Aufschlüsse bringen wird.

Die visuelle Fluoreszenzanalyse wird meist sehr summarisch mit sogenannten „Analysenlampen“ durchgeführt, wobei sowohl die erregende wie auch die erregte Strahlung nur sehr ungenau behandelt und angegeben werden können. Für mikroskopische Zwecke (kleinste Objekte) wurden verfeinerte Apparaturen mit Kondensoren, Filtern usw. von HEIMSTÄDT (Opt. Werke REICHERT) u. a. gebaut.

Es ist nötig, die Grenzen und Nachteile dieser qualitativen Methode einmal klar hervorzuheben. Vor allem ist festzustellen, daß man visuell höchstens 30 bis 50% der Gesamtfluoreszenz erfassen kann, während der

Rest unter dem Schwellenwert des Auges liegt. Ferner erzeugen von dem zusammengesetzten Licht der erregenden Lichtquelle natürlich die verschiedenen Wellenlängen (auch je nach ihrer Stärke) mit verschiedenen Stoffen qualitativ und quantitativ verschiedene Fluoreszenzen, die sich in den chemisch so komplexen Zellen nun noch überdecken, verwischen und summieren können. Die visuelle Untersuchung ist daher nur qualitativ und gibt nur die stärksten Fluoreszenzerscheinungen und diese nicht differenziert. Die Ergebnisse sind also auch nur vorläufige Resultantenwerte.

Trotzdem erschien uns eine Durchprüfung von botanischem Standpunkt wertvoll, zumal bisher meist nur makroskopische Untersuchungen mit der „Analysenlampe“ vorliegen, die nur relativen Wert haben und sich, wie auch die meisten mikroskopischen Befunde, nur auf bestimmte Stoffe und praktische Fragen der Nahrungs- und Genußmitteluntersuchung beziehen. Noch viel bedenklicher als dort ist jedoch die optisch unkritische Auswertung der visuell beobachteten Fluoreszenzen für physiologische Fragen.

Um zu einer kritischen Einstellung und den nötigen Erfahrungen zu gelangen, studierten wir mit Hilfe eines HEIMSTÄDTschen Fluoreszenzmikroskopes der Firma REICHERT^{48*} die Fluoreszenz einer größeren Zahl möglichst reiner, organischer Stoffe und die auffälligsten Erscheinungen in pflanzlichen Geweben. Bei der Analyse von Fluoreszenzerscheinungen in pflanzlichen Geweben ergaben sich Anhaltspunkte, wie man auf kombiniert optischem und chemischem Wege die chemischen Grundlagen einzelner Fluoreszenzphänomene analytisch erfassen könnte. Es zeigte sich auch hier wieder, daß das letzte Wort die quantitative, photometrische Methode hat.

Schließlich versuchten wir für ein Pflanzenglykosid, das Aesculin, Vorkommen und Verteilung in der Pflanze zu verfolgen. Es sei nochmals betont, daß das hier Gebrachte nur eine Sammlung von Befunden und Erfahrungen darstellt, die zu Wegen für die Anwendung einer quantitativen Fluoreszenzanalyse in der Pflanze führen sollten.

Wir glauben, daß erst nach der Aufklärung der Möglichkeiten auf Grund der qualitativen Vorprüfung eine fruchtbare Anwendung der quantitativen spektrographischen Methode möglich ist.

Inzwischen haben wir für einzelne Stoffe noch einen anderen Weg der quantitativen Erfassung erprobt, die fluorometrische Erfassung von fluoreszierenden Stoffen im LEITZschen Nephelometer, über die in einer nächsten Mitteilung berichtet werden soll.

* Wir sind der Firma C. REICHERT, Wien, für die gütige Beistellung der Apparatur zu besonderem Dank verpflichtet.

I. Die Fluoreszenz organischer Körper und pflanzlicher Gewebe

1. Die Apparatur.

Für alle mikroskopischen Untersuchungen wie auch für einen Teil der makroskopischen wurde das Fluoreszenzmikroskop der Firma C. REICHERT⁴⁸ verwendet (Abb. 1). Als Lichtquelle diente eine Bogenlampe mit Eisen- oder Nickeldochtkohlen. Als senkrecht stehende, negative Kohle wurde gewöhnliche Dochkohle verwendet. Ein merkbarer Unterschied zwischen dem Eisen- und dem Nickelbogen war in bezug auf Art und Intensität der erregten Fluoreszenz nicht vorhanden. Das Bogenlicht

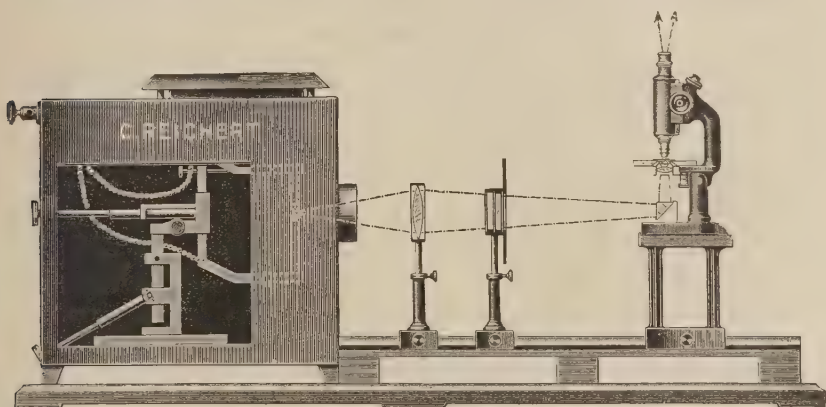


Abb. 1

tritt durch einen Quarzkondensor sowie durch zwei Quarzküvetten und ein Uviolschwarzglas und gelangt über ein Quarzprisma in einen Quarz-Dunkelfeldkondensor, der die Beleuchtung des Gesichtsfeldes übernimmt. Die Quarzküvetten enthielten als Filterflüssigkeiten einerseits Kupfersulfat (1:10), anderseits eine Lösung von Nitrosodimethylanilin in Wasser (1:7500). Der Rest der sichtbaren Strahlen wird durch ein Uviolschwarzglas (mit Nickeloxyd als Absorbens), das hinter den Küvetten angebracht ist, wegfiltriert. Zwischen dem Uviolschwarzglas und dem Quarzprisma des Mikroskopes bleibt ein freier Raum von etwa 15 bis 20 cm Länge, der sich sehr gut zu makroskopischen Beobachtungen der Fluoreszenzerscheinungen verwenden läßt, wenn man für eine geeignete Unterlage für die Objekte aus schwarzem Papier oder Tuch sorgt und allfällige Reflexe verhindert. Der Kegel des ultravioletten Lichtes, der hier zur Verfügung steht, hat eine ausnutzbare Fläche von etwa 14 qcm (Kreis), ist also auch für größere Objekte, wie für Äste, Holzstücke, Fruchtquerschnitte u. a. groß genug.

Zwischen den Kondensor und den Objektträger wird zweckmäßig ein großer Tropfen Glycerin gebracht, um die Intensität der Fluoreszenz nicht durch unnötige Verluste infolge Reflexion des einfallenden Lichtes zu schwächen und eine Dunkelfeldbeleuchtung zu ermöglichen. Wir verwendeten Objektträger aus Quarz oder Uviolglas, jedoch kann man ebensogut solche aus gewöhnlichem Glas verwenden, sofern nicht dieses Glas selbst mit störender Intensität fluoresziert. Die Stärke der Fluoreszenz wird durch Verwendung von Glasobjektträgern nicht merklich beeinflusst, selbst dickere Glasschichten vermindern die Intensität der Fluoreszenz nur wenig.

2. Reine Substanzen.

Wir untersuchten vorerst eine größere Anzahl reiner (pro analysi oder mehrmals umkristallisierter) organischer* Substanzen** auf ihre Fluoreszenz. Untersucht wurden die Körper sowohl trocken, wie auch in geeigneten, selbst absolut fluoreszenzfreien Lösungsmitteln, wie Wasser, Alkohol usw. Eine kleine Menge der zu prüfenden Substanz wurde in Pulverform auf einen Objektträger gebracht und die Fluoreszenz zunächst makroskopisch, dann mikroskopisch beobachtet. Dann erst wurde das Lösungsmittel bei gleichzeitiger mikroskopischer Beobachtung des Präparates hinzugefügt. Endlich wurde nach abermaliger Konstatierung der Fluoreszenzerscheinungen dem Präparat noch ein Tropfen einer 50%igen Schwefel- oder Salzsäure zugefügt, um dabei etwa auftretende Änderungen der Fluoreszenz zu beobachten. Flüssige Substanzen wurden nur makroskopisch beobachtet, und zwar in Eprovetten aus nicht fluoreszierendem Glas.

Wir geben im folgenden eine Liste der geprüften Substanzen und ihrer Fluoreszenzerscheinungen.

Zur Erklärung der Tabelle: In der Rubrik „Trocken“ bedeutet 0 keine und + vorhandene Fluoreszenz bei Beobachtung am Objektträger unter dem Mikroskop. Die angegebene Farbe der Fluoreszenz bezieht sich, wenn nicht anders angegeben, auf die „trockene“ und die im bezeichneten Lösungsmittel vorhandene Fluoreszenz.

* Eine Untersuchung der Fluoreszenz anorganischer Stoffe findet sich bei W. LENZ. Einige ätherische Öle und Riechstoffe hat A. MÜLLER untersucht.

** Es wurden größtenteils Präparate der Firmen MERCK, KAHLBAUM und SCHUCHARDT verwendet. Ob dabei nicht anhaftende Spuren von Verunreinigungen noch fluoreszenzerregend mitspielen, läßt sich im Einzelfall von vorneherein nicht entscheiden. Eine Fehlerquelle könnte es sein bei allen aus dem Organismus dargestellten Substanzen. Bei den vielen, rein chemisch dargestellten fällt diese Möglichkeit von vorneherein weg. Bei ersteren bliebe auch nach Reinigung immer noch die Frage, ob durch die Reinigung (Umkristallisieren usw.) gerade die zäh anhaftenden, Fluoreszenz vortäuschenden Verunreinigungen vollständig, also eindeutig beseitigt werden können. Jedenfalls können wir diese Möglichkeit auf Grund unserer Erfahrungen nicht als allgemeine Fehlerquelle betrachten.

A. Alkaloide*

Name	Trocken	Zusatz	Lösungs- mittel	Intensität und Farbe der Fluoreszenz
Anhalonin-HCl	+	-	Wasser	intensiv hellblau
„	(blaugrün)	H ₂ SO ₄	„	ebenso
„	—	NaOH	„	0
Atropin	+	—	„	stark violett
„	—	H ₂ SO ₄	„	mäßig grün
Cevadin	—	-	„	schwach violett
„	—	-	Alkohol	„ „
„	—	-	Chlorof.	„ „
„	—	H ₂ SO ₄	Wasser	„ grünlich
„	—	„	Alkohol	grünlich
Chinin. Base	+	—	Wasser	mäßig blau
„	—	HCl	„	sehr stark blau
„	—	H ₂ SO ₄	(bis 1:100 000 000)	ebenso
„ -hydrochlorid	—	—	ebenso	(bis 1: 1 000 000)
Chinidin	—	H ₂ SO ₄	ebenso	(bis 1: 20 000 000)
Chinarindepulver(alt)	+	„	ebenso	(bis 1: 500 000)
„ (frisch)	+	„	ebenso	(bis 1: 2 000 000)
Cinchoninsulfat	—	„	Wasser	stark blau
Cinchonamin	0	—	„	0
„	—	NH ₃	„	0
„	—	HCl	„	0
„	—	H ₂ SO ₄	„	0
Cotarnin-HCl	+	-	„	stark grün
„	—	H ₂ SO ₄	„	„ „
„	—	NaOH	„	blau
Hydrastinin-HCl	+	—	„	stark blaugrün
„	—	HCl	(bis 1: 20 000 000)	stark blaugrün
„	—	H ₂ SO ₄	„	„ „
Hordein-SO ₄	0	—	„	0
„	—	H ₂ SO ₄	„	grün
„	—	NaOH	„	0
Hygrin	—	—	—	mäß. weißlichbl.
„	—	H ₂ SO ₄	Wasser	violett
„ (Kristalldrüsen)	—	HCl	„	„
Kaffein	+	—	„	„
„	—	H ₂ SO ₄	„	stark blau
„	—	NaOH	„	violett
Mezcalin-SO ₄	0	—	„	0
„	—	Säure o. NaOH	„	0
Narcein	+	—	„	stark hellgrün

* Vgl. dazu: P. W. DANCKWORTT u. E. PFAU¹², E. BAYLE u. R. FABRE², dieselben³.

Name	Trocken	Zusatz	Lösungs- mittel	Intensität und Farbe der Fluoreszenz
Narcein (Nadeln)...	—	H ₂ SO ₄	Wasser	stärker blau
Narkotin	—	—	„	mäßig violett
„	—	H ₂ SO ₄	„	„ grün
Papaverin	—	—	„	stark violett
„	—	H ₂ SO ₄	„	„ grün
„	—	HCl	„	„ „
Ricinin	+	—	—	violett
„	—	—	Wasser	schwach blau
„	—	Säure	„	„ „
„	—	NaOH	„	„ „
Solanin	0	—	„	mäßig blau
Solanidin	+	—	„	stark grün
Veratrin	+	—	„	schwach violett
„	—	—	Alkohol	„ „
„	—	—	Chlorof.	„ „
„	—	H ₂ SO ₄	Wasser	schwach grünlich
„	—	„	„	stärker „

B. Aminosäuren und Eiweißstoffe

Alanin	+	—	Wasser	hellblau
„	—	H ₂ SO ₄	„	„
„	—	NaOH	„	0
Asparaginsäure	0	—	„	0
Asparagin	0	—	„	0
Benzyl-d-1-Alanin ..	0	—	„	0
„ „ ..	—	NaOH	„	blau
Cystin-HCl	0	—	„	violett
„	—	H ₂ SO ₄	„	bläulich
„	—	NaOH	„	0
Glykokoll	0	—	„	0
„	—	NaOH	„	0
Glutaminsäure	+	—	„	violett
„	—	H ₂ SO ₄	„	„
„	—	NaOH	„	„
Leucin (1-)	0	—	„	0
„	—	NaOH	„	0
Serin (synthetisch) .	0	—	„	schwach violett
Tryptophan	0	—	„	blaugrün
„	—	H ₂ SO ₄	„	blau
„	—	NaOH	„	heller blaugrün
d-1-Valin	+	—	—	hellblau
„	—	—	Wasser	violett
„	—	H ₂ SO ₄	„	hellblau
„	—	NaOH	„	violett
Legumin	+	—	„	stark hellblau
„	—	HCl	„	viel schw. hellbl.
Nuklein	0	—	„	mäßig blau
Taurin	0	—	„	mäßig violett
Vitellin	0	—	„	schwach violett

Name	Trocken	Zusatz	Lösungs- mittel	Intensität und Farbe der Fluoreszenz
C. Fermente				
Diastase.....	0 (makro blau)	—	Wasser	hellblau
„	—	HCl	„	schw. hellblau
Emulsin	0 (makro blau)	—	„	blau
Myrosin	0	—	„	mäßig hellblau
„	—	HCl	„	schwach hellblau
Papayotin	+	—	„	stark blau
Pepsin	0	—	„	mäßig blau
Urease (Squibb)....	(makro blau und gelb)	—	„	schwach blau

D. Glykoside und Aglukone

Aesculin.....	+	—	Wasser	stark blau
„	—	Säure	„	schwächer blau
„	—	Alkali	„	sehr stark blau (bis etwa 1 : 50 000 000)
Aesculetin	—	—	„	schwach grün
„	—	—	Alkohol	goldgrün
„	—	H ₂ SO ₄	„	rosa
„	—	NH ₃	„	goldgrün
„	—	„	Aceton	„
Amygdalin	0	—	Wasser	schwach blau
Arbutin	0	—	„	„ violett
Bryonin	0	—	„	stark blau
„	(makro blau)	H ₂ SO ₄	„	sehr schw. blau
„	—	NH ₃	„	stark blau
Chrysarobin	(m. orange)	—	„	orange
„	—	H ₂ SO ₄	„	stark rosa
„	—	NH ₃	„	violett
Delphinin (farblos) .	(m.weißgelb)	—	„	blau
„	—	NH ₃	„	„
„	—	H ₂ SO ₄	„	„
Delphinidin (farblos)	+	—	„	stark grün
„	—	Säure	„	„ „
Digitonin	+	—	„	violett
„	—	H ₂ SO ₄	„	„
„	—	NH ₃	„	blauviolett
Fraxin	—	wie das Aesculin		
Fraxetin	—	wie das Aesculetin		
„	—	Aceton		blau (!)
Phloridzin	0	—	Wasser	stark hellgrün
Quercitrin	0	—	„	„ rotgelb
„	—	—	Alkohol	schwächer rotgelb
Salizin	0	—	Wasser	schwach violett
Syringin	0	—	„	mäßig „

Name	Trocken	Zusatz	Lösungs- mittel	Intensität und Farbe der Fluoreszenz
E. Phenole				
Hydrochinon	+	—	Wasser	schwach violett
Phenol	—	—	„	mäß. weißlichbl.
Phloroglucin	+	—	„	stark hellblau
„	—	H ₂ SO ₄	„	„ „
„	—	NH ₃	„	0 (!)
Pyrogallol	0	—	„	schwach grün
Resorzin	0	—	„	„ violett
Tannin	0	—	„	„ „
Vanillin	0	—	„	„ „

F. Säuren				
Chinasäure	0	—	Wasser	sehr stark violett
„	—	H ₂ SO ₄	„	s. st. blauviolett
„	—	NH ₃	„	schwach violett
Benzoësäure	+	—	„	stark „
Brenztraubensäure .	—	—	—	gelblich grün
„	—	NaOH	—	grün
Buttersäure	—	—	—	bläulich
Fumarsäure	0	—	Wasser	mäßig violett
„	—	HCl	„	„ „
Gallussäure	0	—	„	„ „
„	—	HCl	„	„ „
Hippursäure	0	—	„	„ hellblau
„	—	HCl	„	„ „
Milchsäure	—	—	—	„ „
„	—	NaOH	—	schwächer grünbl.
Opiansäure	0	—	Wasser	mäßig violett
„	—	HCl	„	„ grün
Oxalsäure	0	—	„	„ violett
Palmitinsäure	0	—	—	schwach „
„	—	—	Alkohol	stärker „
Pikrinsäure	0	—	Wasser	0
Protokatechusäure..	+	—	„	stark blau
Salicylsäure	+	—	„	„ violett
Schleimsäure	0	—	„	schwach violett
Sterinsäure	0	—	„	„ „
Valeriansäure	0	—	„	mäßig blau
Zitronensäure	0	—	„	schwach blau
Zimtsäure	0	—	„	„ violett
Zuckersäure	0	—	„	„ „

G. Zucker und ähnliches

Glukose	(makro blau)	—	Wasser	schwach blau
Inosit	0	—	„	„ violett
„	0	HCl	„	0
Inulin	0	—	„	schwach blau
„	—	H ₂ SO ₄	„	grünlich

Name	Trocken	Zusatz	Lösungs- mittel	Intensität und Farbe der Fluoreszenz
Lactose	} alle 0	—	Wasser	schwach violett
Maltose				
Mannose				
Rhamnose				
Saccharose				

H. Diverse Stoffe

Acetaldehyddiureid	—	—	Wasser	dunkelviolet
Amylalkohol	—	—	„	sehr schwach blau
Anthrazen	+	—	Wasser	sehr st. hellblau
„	—	HCl	„	„ „ „
Argininnitrat	—	—	„	schwach violett
Asclepiasphytosterin	0	—	„	0
„	—	HCl	„	schwach violett
Brenzkatechin	+	—	„	sehr stark violett
Carotin	—	—	Alkohol +	schwach gelbgrün
			Wasser	
Chlorophyll	—	—	Alkohol	stark rot
Cholesterin (roh) ...	+	—	Wasser	„ weißgrün
Cumarin	0	—	„	schwach violett
Daturin	(m. violett)	—	„	violett
„	—	NH ₃	„	„
„	—	H ₂ SO ₄	„	blauviolett
Diatomin	—	—	Alkohol	stark rot
Dimethylharnstoff- xanthylprodukt ..	—	—	Wasser	schwach violett
Dimethylamido- benzaldehyd	+	—	„	sehr st. hellblau
Dimethylamido- benzaldehyd	—	HCl	„	ebenso
Dimethylglyoxim ..	0	—	„	schwach blau
Dinitro- α -Naphthol ..	0	—	„	„ gelb
„ „ -NH ₃	0	—	„	„ oder 0
„ „ -tri- methylamin	0	—	„	„ gelb
Dioxyacetone	(m. violett)	—	„	mäßig hellblau
„	—	NaOH	„	schw. grünlichbl.
Dixanthylharnstoff ..	0	—	„	mäßig violett
Fibrin	0	—	„	„ hellblau
„	0	HCl	„	„ „
Flaviansäure	0	—	„	0
Flavianate (diverse).	0	— u.	„	0
		H ₂ SO ₄		
Formaldehyd	—	—	„	blau o. grünlich
„	—	NaOH	„	schwach grünlich
Formaldehyddiureid- xanthylprodukt ..	0	—	„	mäßig blau
Glycerinaldehyd ...	(m. blaugrün)	—	„	schw. hell blaugr.
„	—	NaOH	„	schw. blaugrün

Name	Trocken	Zusatz	Lösungs- mittel	Intensität und Farbe der Fluoreszenz
Guano	—	—	Wasser	blau
„	—	HCl	„	grün
Hämin	0	—	„	0
Hämatoxylin	0	—	„	schwach violett
Harnstoff	+	—	„	mäßig violett
„	—	Säure	„	„ grün
Indigo	0	—	„	schw. blaugrün
„	0	—	Alkohol	stärker „
Isatin	0	—	Wasser	0
„	—	HCl	„	0
Käsealbumin	0	—	„	stark hellblau
„	—	HCl	„	„ „
Kreatin	+	—	„	„ „
„	—	HCl	„	schwächer hellbl.
Lezithin	mit, ohne Wasser, Alkohol usw.			mäßig blaugrün
Orcein	0	—	Wasser	schwach violett
Orcin	0	—	„	schwach violett
Phenanthren	+	—	„	sehr stark blau
p-Phenylendiamin ..	+	—	„	stark violett
Phytin	0	—	„	schwach violett
Propionaldimethon .	—	—	„	hellblau
Quercit	0	—	„	schwach violett
„	—	—	Alkohol	stärker „
Santonin	+	—	Wasser	schwach „
Scoparin	+	—	„	„ gelb
„	—	H ₂ SO ₄	„	„ gelbgr.
Seide	0	—	„	stark blau
Stärke (Weizen) ...	0	—	„	schwach violett
Terpineol	0	—	„	„ blau
Thymol	0	—	„	„ violett
Trinitroresorzin	0	—	„	0
Xanthydrol	0	—	„	mäßig violett

Es zeigt sich also, daß die schönsten und stärksten Fluoreszenzerscheinungen im allgemeinen den Alkaloiden und den Glykosiden eigen sind, deren Fluoreszenz oft noch bis in die höchsten Verdünnungen deutlich erkennbar ist. Aesculin, oder Fraxin z. B. fluoreszieren noch in Verdünnungen von 1 : 10000000 deutlich blau, ja sogar bei 1 : 100000000 läßt sich noch ein schwaches blaues Leuchten feststellen. Es ist also z. B. ohneweiters möglich, in 10 ccm reinem Wasser noch 1 γ Aesculin oder Fraxin mit Sicherheit nachzuweisen.

Völlig fluoreszenzfrei waren nur wenige der untersuchten Substanzen. Fast alle zeigten entweder in festem Zustande oder in Lösung eine mehr oder weniger starke Fluoreszenz.

In völlig trockenem, festem Zustande fluoreszierten manche Stoffe, so z. B. das Phenanthren. Der größte Teil der Substanzen leuchtet jedoch

(bei mikroskopischer Beobachtung) trocken entweder gar nicht oder nur sehr schwach, jedoch leuchten sie sofort auf, wenn sie mit Wasser oder anderen Lösungsmitteln befeuchtet werden*. Doch leuchten nicht nur die in den betreffenden Lösungsmitteln löslichen Stoffe, sondern ebenso auch die darin schwer oder unlöslichen Stoffe auf. Allerdings wurde beobachtet, daß die Substanzen in jenen Lösungsmitteln, in denen sie leicht löslich sind, intensiver aufleuchten als in solchen, in denen sie schwerer löslich sind. Die Eigenschaft der Stoffe, auch in Medien zu fluoreszieren, in denen sie nicht löslich sind, gibt uns einen wertvollen Behelf zur Beobachtung von Gewebsschnitten in die Hand, indem uns dadurch eine genaue Lokalisation der Stoffe im Gewebe möglich wird, wovon später (S. 151) berichtet wird.

Viele der geprüften Stoffe fluoreszieren nur in festem Zustande, während sie in Lösung fluoreszenzfrei sind. Beobachtet man die Kristalle aber während des Lösens, so sieht man, daß nur die noch ungelösten Teile der Substanz aufleuchten, eine Tatsache, die in der verhältnismäßig schwachen Fluoreszenz begründet ist; der betreffende Stoff ist in Lösung bereits zu verdünnt, um noch sichtbare Fluoreszenz zu zeigen (Kaffein).

Die Farbe der Fluoreszenz ist in den allermeisten Fällen violett oder blau, seltener grün. Sehr wenige Substanzen fluoreszieren gelb und nur einige rot. Die Eigenfarbe der Stoffe ist für die Farbe der Fluoreszenz insoferne bedeutungslos und zeigt auch mit ihr keinerlei Zusammenhang, als gelbe Substanzen z. B. sowohl gelb als auch violett fluoreszieren können, wie die farblosen blau, grün oder violett.

Ein Zusatz von Säure oder Alkali verstärkt oder vermindert die Intensität der Fluoreszenz und bedingt manchmal sogar Änderungen ihrer Farbe. Beide Änderungen, sowohl die der Farbe als auch die der Intensität sind weniger Veränderungen der chemischen Eigenschaften der Substanzen als vielmehr, teilweise sicher neben diesen, der Wirkung der Verschiebung der Wasserstoffionenkonzentration zuzuschreiben. Wie in einer späteren Mitteilung berichtet werden soll, steigt die Intensität beim Fraxin mit steigendem pH-Wert an, ohne daß die Farbe dabei verändert wird. Ebenso zeigt Fraxetin bei steigendem pH eine Steigerung seiner Fluoreszenzintensität, jedoch verändert sich dabei auch die Farbe; es fluoresziert bei pH 4 und pH 5 rosa, von pH 6 an erst bläulich und dann grün.

3. Die Fluoreszenz pflanzlicher Gewebe.

Trotz der allgemeinen Verbreitung und Beliebtheit der Fluoreszenz als Methode auf anderen Gebieten ist auf botanischem Gebiete bis heute nur

* Vielleicht ist die meist fehlende Fluoreszenz bei mikroskopischer Beobachtung im trockenen Zustande darauf zurückzuführen, daß kein direkter optischer Kontakt zwischen Objekt und Objektträger besteht.

äußerst wenig fluoreszenzmäßig gearbeitet worden. Was an botanischer Fluoreszenzliteratur vorhanden ist, betrifft bis auf einige Ausnahmen^{41, 44} (u. a.) fast alles rein praktische, warenkundliche oder pharmakologische Fragen. Freilich sind dort manche Angaben von rein botanischem, theoretischem oder methodischem Interesse zu finden, jedoch sagen diese nicht viel mehr, als daß eine fluoreszenzmäßige Bearbeitung botanischer Fragen aussichtsreich erscheint.

Zunächst war eine allgemeine Übersicht über die Fluoreszenz der verschiedenen Gewebe und Gewebelemente der Pflanzen zu gewinnen, sowie auch die Fluoreszenz der Zellinhaltskörper und der im Zellsaft gelösten Stoffe und deren Verteilung über das ganze Organ oder Gewebe kennenzulernen.

Zur Methodik: Es wurden Mikrotomschnitte durch die Gewebe und Organe, die zu untersuchen waren, hergestellt, deren Dicke etwa 20 bis 100 Mikron betrug. Die Schnitte vieler Gewebe lassen sich ohne weiteres in Wasser beobachten, ohne daß dabei eine Änderung der Fluoreszenzerscheinungen gegenüber dem trockenen Zustande eintritt. Dies ist jedoch selbstverständlich nur dann der Fall, wenn das Gewebe keine fluoreszierenden, wasserlöslichen Substanzen enthält. Sind jedoch derartige Substanzen vorhanden, so lösen sie sich natürlich in Wasser, fluoreszieren darin stark auf und verteilen sich homogen über den ganzen Schnitt, so daß eine Bestimmung der ursprünglichen Lagerung des Stoffes ebensowenig mehr möglich ist als eine Beobachtung der Fluoreszenz der ursprünglich von diesem Stoff freien Gewebsteile. Wie wir bereits im ersten Teil unserer Untersuchungen gesehen haben, liegen in den Glykosiden derartige stark aufleuchtende und wasserlösliche Stoffe vor. Tatsächlich zeigen auch die glykosidführenden Gewebe die eben erwähnte Erscheinung. So sind Schnitte durch Äste von *Aesculus hippocastanum*, *Fraxinus ornus*, *Diervilla japonica* u. a. in Wasser bereits nach kurzer oder längerer Zeit vollständig von fluoreszierendem Glykosid überschwemmt, so daß eine Beobachtung der Eigenfluoreszenzen der übrigen Gewebe, die in trockenem Zustand keine Glykosidfluoreszenz zeigen, unmöglich wird. Andererseits wieder fluoreszieren die trockenen Schnitte (selbstverständlich müssen diese auch trocken hergestellt werden) nur äußerst schwach und nach völligem Eintrocknen oft überhaupt nicht mehr, so daß eine Beobachtung derartiger Gewebe fast unmöglich erschien.

Wir beobachteten derartige Schnitte also nicht in Wasser, sondern brachten sie in völlig trockenem Zustande, oder aber auch so, wie wir sie aus der frischen Pflanze erhielten, in ein Medium wie Äther, Petroläther oder Tetrachlorkohlenstoff. Diese lösen die störenden Glykoside nicht, lassen sie aber doch, wie schon oben erwähnt wurde, intensiv aufleuchten. Äther, Petroläther usw. fluoreszieren, wenn sie genügend rein sind, selber nicht, so daß nun eine völlig unbehinderte Beobachtung möglich ist.

Das Glykosid leuchtet nun wohl auch, jedoch nur in jenen Gewebepartien, in denen es eben normal in der Pflanze lokalisiert ist. So ergibt sich also mit Hilfe dieser Methode ein einfacher und eindeutig lokalisierter Nachweis der stark fluoreszierenden Glykoside und anderer Stoffe mit ähnlichen Eigenschaften (siehe S. 131). Allerdings bildet die Fluoreszenz, solange sie nicht quantitativ spektralanalytisch gehandhabt wird, nur ein Mittel zur Lokalisationsbestimmung der betreffenden Stoffe. Den Untersuchungen hat jedoch ein mikro- bzw. histochemischer Nachweis parallel zu gehen, der die Identität des fluoreszierenden Stoffes nachweist. Vielleicht gelingt es später auf Grund der Fluoreszenz bei quantitativer, spektralanalytischer Bearbeitung auch einen eindeutigen Nachweis der Stoffe auszuarbeiten. Bisher läßt sich infolge der geringen Verschiedenheit der Farbe der Fluoreszenzlichter, die wie bereits mitgeteilt (siehe Einleitung), die verschiedensten Substanzen aufweisen, ein eindeutiger Nachweis noch nicht durchführen. Sicher und eindeutig läßt sich auf Grund der Fluoreszenz das Fehlen des betreffenden Stoffes im Gewebe feststellen. Ist jedoch Fluoreszenz vorhanden, so muß eine histologische Reaktion durchgeführt werden, um das Vorhandensein und die Art des Stoffes nachzuweisen und festzustellen.

Zur mikroskopischen Beobachtung wurden die Präparate trocken auf einen Objektträger gebracht, ein Deckglas darübergelegt und nun das Gesichtsfeld eingestellt. Dann wird mit einer Pipette Äther, Petroläther oder ein anderes, geeignetes Medium zwischen Objektträger und Deckglas gebracht. Die Solvenzien verdampfen zwar sehr schnell wieder — und mit ihrem Verschwinden hört auch die starke Fluoreszenz des Schnittes wieder auf — jedoch hat man trotzdem genügend Zeit zur Beobachtung; auch kann man neuerdings nachfüllen, bis die Beobachtung vollendet ist. Bei photographischen Aufnahmen ist dabei allerdings für eine geeignete Fixierung der Lage der Schnitte zu sorgen, um Verschiebungen infolge der entstehenden Strömungen zu vermeiden.

Betrachten wir nun die pflanzlichen Gewebe im filtrierten, ultravioletten Licht, so sehen wir wohl, daß sich verschiedene Gewebelemente besonders deutlich von ihrer Umgebung abheben: die Unterschiede liegen jedoch weniger in der Farbe als vielmehr in der außerordentlich verschiedenen Intensität der Fluoreszenz. Die Farben des ausgestrahlten Lichtes sind bei denselben Gewebeelementen verschiedener Pflanzen fast nie einander gleich, wenn auch in gewissen Grenzen ähnlich. So leuchtet die Kutikula verschiedener Pflanzen weiß, weißlichgelb, rosa, weißlichblau oder manchmal weißlichviolett. Überall jedoch zeigt sie dieselbe Erscheinung: ihre Fluoreszenz ist äußerst intensiv. Bedenkt man nun einerseits, daß die Kutikula sowohl, wie auch die Zellwände und besonders das Plasma und der Zellsaft nicht aus je einer homogenen Substanz bestehen, daß sie vielmehr aus mehreren oder vielen zusammengesetzt

erscheinen, und anderseits, daß es sich, mit Ausnahme des Zellsaftes, um Gebilde teils kolloidaler, teils anderer, höchst komplizierter Struktur handelt, so wird man verstehen, daß die Farben, in gewissen Grenzen wenigstens, variabel sein müssen. Der heterogene Aufbau besagt an sich schon, daß mehrere Substanzen mit möglicherweise verschiedenen Fluoreszenzfarben am Aufbau beteiligt sind. Ist dies der Fall, so wird jede Änderung des Verhältnisses oder das Hinzutreten eines neuen Stoffes die Farbe, bzw. die Mischfarbe abändern. Anderseits können Plasma, Zellwand oder Kutikula durch eingelagerte Stoffe, oder durch solche, die sie infolge ihrer Struktur aus dem Zellsaft adsorbiert haben und die ebenfalls in irgend einer Farbe fluoreszieren, ihre Farbe ändern. So ergibt sich bei der Betrachtung eines umfangreichen Gewebsmaterialies, daß sich mehr Einheitlichkeit in der Verteilung der Intensität als der der Farbe vorfindet. Denn die Intensität wird durch Beimengungen anderer, fluoreszierender Stoffe nicht so stark und augenfällig beeinflußt wie die Farbe.

Im allgemeinen leuchten die Kutikula und die Gefäßbündel am intensivsten. Sehr stark leuchten auch alle verdickten Zellwände aus dem umgebenden Gewebe hervor, wahrscheinlich oft mehr durch ihre größere leuchtende Fläche (im Schnitt) als durch absolut größere Intensität. Am schwächsten fluoresziert in allen Fällen das Mark.

Die Farben sind dabei in der Mehrzahl folgende:

Kutikula	weißlich
Epidermis	hellblau
Rindenparenchym	grün, braun (oder durch die Chloroplasten rot)
Bastbündel	blau
Holz	violett, blau, grünlich
Mark	violett*
Blattparenchym	violett.

Bei allen diesen Angaben handelt es sich immer um die Zellwände der einzelnen Gewebe. Bemerkenswert ist, daß reine Zellulose (Watte) violett, Natron- und Sulfitzellulose hellviolett aufleuchten. Der Zellsaft kann sowohl fluoreszenzfrei (also optisch leer) sein oder aber infolge seines Gehaltes an wirksamen Stoffen (Glykoside, Gerbstoffe u. a.) mehr oder weniger stark in verschiedenen Farben (von Gelb bis Blau) aufleuchten. Dabei konnte beobachtet werden, daß die Fluoreszenzfarbe des Zellsaftes meist der der betreffenden zugehörigen Zellwände ähnlich oder gleich ist. Besonders schön ist dies z. B. bei den Harzgängen in Querschnitten durch Nadeln von *Pinus nigra* zu sehen. Der Inhalt der Harzgänge sowohl als auch der Randzellen derselben fluoreszieren in Äther stark violett und die Wände dieser Randzellen ebenso intensiv violett,

* Bei *Rhus typhina* z. B. ist das Mark gelb.

während das umgebende Gewebe dunkler violett und mit bedeutend geringerer Intensität leuchtet. Diese Erscheinung ist jedoch nicht an allen Schnitten, auch nicht an trockenen Schnitten zu beobachten. Bei diesen fluoreszieren die Harzgänge nicht sonderlich stärker als das umliegende Gewebe.

Von den Inhaltskörpern der Zellen fluoreszieren nur wenige. Der Zellkern hebt sich nicht wesentlich hervor. Sehr stark und schön fluoreszieren jedoch die Chloroplasten, und zwar in dunkelroter Farbe und mit verhältnismäßig großer Intensität. Die Wellenlängen dieser Strahlung sind nach WILSCHKE⁶⁴ folgende: es sind zwei Maxima vorhanden, das eine von 6800 bis 6600, das dem Chlorophyll a und das andere, das dem Chlorophyll b zugeschrieben wird, von 6600 bis 6550 Å. Außer bei den Chloroplasten aller höheren Pflanzen wurde auch bei denen folgender niederer Pflanzen rote Fluoreszenz gleicher Art festgestellt: *Peridinium*; *Navicula*, *Pinnularia*, *Cyclotella*; *Micrasterias*, *Netrium*, *Closterium*, *Cosmarium*; *Spirogyra*, *Zygnema*, *Mougeotia*; *Oedogonium*, *Cladophora*.

Alkoholische Lösungen von Chlorophyll fluoreszieren rot. Schüttelt man gegen Petroläther aus, so geht die rote Fluoreszenz mit dem Chlorophyll vollständig in die Ätherfraktion über, während die alkoholische Lösung, die nunmehr nur noch Karotin und Xanthophyll enthält, grünlich aufleuchtet. Fügt man der Chlorophylllösung Natronlauge zu, so ändert sich die Fluoreszenzfarbe in eine trübes grün. Setzt man nun wieder Säure zu, so tritt auch die grüne Fluoreszenz wieder auf*.

Karotine fluoreszieren schwach grün, in der Zelle auskristallisiert (*Daucus carota*, nach MOLISCHs Methode mit alkoholischer Kalilauge in *Elodea canadensis*) überhaupt nicht oder nur sehr schwach.

Anthokyane geben dem Zellsaft keine Fluoreszenz.

Stärkekörner fluoreszieren in der Zelle ebenso nur äußerst schwach oder überhaupt nicht. Als trockenes Präparat zeigt Stärke bekanntlich mannigfaltige Fluoreszenz.

Kristalle von Kalziumoxalat fluoreszieren nicht sonderlich und werden nur durch Reflexe sichtbar.

Samen zeigen in der Samenschale fast oder überhaupt keine Fluoreszenz, die Kotyledonen meist nur schwach violette, soweit nicht darin stark leuchtende Stoffe gespeichert liegen, wie dies z. B. bei Samen von *Pinus*, *Picea*, *Abies*, *Fraxinus* usw. der Fall ist, jedoch nicht z. B. bei *Phaseolus* und nur selten z. B. bei *Aesculus*.

Keimlinge zeigen immer an den Wurzelspitzen violette, blaue oder

* Die rote Chlorophyllfluoreszenz zeigte sich auch in Extrakten aus etiolierten, nicht grünen, jedoch nicht in absoluter Dunkelheit gezogenen Keimlingen (8 Tage alt) von *Zea mays*. In absoluter Dunkelheit gezogene, ebensolche Keimlinge zeigen wohl die grüne Fluoreszenz im Alkoholextrakt, jedoch nicht die rote der Ätherfraktion.

gelbe Fluoreszenz von großer Intensität. Die Angabe von K. LINSBAUER,³² daß die Wurzelspitzen mancher Keimlinge einen stark fluoreszierenden Stoff ausscheiden, konnte bestätigt werden. Werden die Wurzeln auf feuchtem Filtrierpapier gezogen, so ist noch auf der 3., 4. und 5. Filterpapierschichte der abgesonderte Stoff nachweisbar.

Die Organe älterer, „erwachsener“ Pflanzen wurden bereits besprochen. Im folgenden seien einige Beispiele dafür gegeben, die die Mannigfaltigkeit der Farben deutlich zeigen.

Blatt:

<i>Elodea canadensis</i> :	Gewebe	blau
	Zellsaft	0
	Chloroplasten	rot
<i>Linaria genistifolia</i> :	Epidermis	blau
	Parenchym	blau
	Zellsaft	0
	Chloroplasten	rot
<i>Zea mays</i> :	ebenso	
<i>Pinus nigra</i> :	Kutikula	weißlichviolett
	Subepidermales Gewebe	
	(chlorophyllfrei)	blau
	Parenchym	rot (Chloroplasten)
	Gefäßbündelzylinder:	
	Parenchym	hellblau
	Holzteil	mattgrün
	Bastteil	intensiv blau

Die Gefäßbündelstränge der Blätter sowie sämtliche Gewebe der Blattstiele zeigen im wesentlichen dieselben Verhältnisse wie die betreffenden Stengel- oder Stammgewebe. Wenn auch zwischen Blattstielen und zugehörigem, verholzten Stamm oft Unterschiede in den Farben zu beobachten sind, so sind doch die Blattstiele den noch jungen, krautigen Stengeln und Stämmen in bezug auf Art und Verteilung der Fluoreszenz meist gleich.

Stamm:

<i>Tilia platyphylla</i> , junger Ast:	Kutikula	hellgelb
	Subepidermales Gewebe	
		grün
	Rindenparenchym	blau
	Kambium	blau
	Holz	violettlichtblau
	Rindenmarkstrahlen	
	(Anlagen)	grün
	Markparenchym	violett

Dasselbe, älterer Ast:	Kutikula	hellgelb
	Bast, Rinde	blau
	Holz	blau
	Rindenmarkstrahlen	braun, darunter intensiv violette Partien
	Marparenchym	blauviolett
<i>Viscum album</i> :	Kutikula	rosa bis gelblichweiß
	Epidermis und subepidermales Gewebe	grün
	Darunterliegende Gewebe	blau
		intensiv blau
		rosa
<i>Dictamnus albus</i> :		blau
	Kutikula	weißlichblau
	Äußeres Rindenparenchym	grün
	Inneres Rindenparenchym	blaugrün
	Gefäßbündel	grün
	Markparenchym	violett
	Haare	rotviolett
<i>Conium maculatum</i> :	Kutikula	weißlichviolett
	Bast	blaugrün
	Holz	grün
	Markparenchym	violett
<i>Zea mays</i> :	Kutikula	hell rotviolett
	Verdicktes, subepidermales Gewebe	blau
	Bast	blau
	Holz und Gefäßprimanen	gelb
	Parenchym	violett
<i>Tradescantia viridis</i> :	Epidermis, Subepidermis, verdickte Zellen	
	Gefäßbündelringes, Gefäßbündel	intensiv hellblau
	Chloroplasten	leuchtend rot
	Parenchym	hell blau
	Raphiden, Oxalatkristalle	0

<i>Picea excelsa</i> , Ast:	Kutikula	weißlichviolett
	Subepidermales Gewebe	grün
	Rindengewebe	intensiv violett (darunterroteChloroplasten)
	Kambium	intensiv weiß bis violett
	Holz	mattblau, das
	Herbstholz	mehr grünlich
	Markparenchym	violett, stellenweise braun

Zusammenfassung I.

1. Es wurde eine größere Anzahl von reinsten, organischen Substanzen auf ihre Fluoreszenz im filtrierten, ultravioletten Licht hin untersucht. Es hat sich gezeigt, daß viele Pflanzenstoffe, bzw. in Pflanzen vorkommende Stoffe mehr oder weniger intensiv und charakteristisch und bis in verschieden große Verdünnungen fluoreszieren.

2. Es wurde außerdem die Fluoreszenz der pflanzlichen Gewebe mikroskopisch beobachtet und die für die einzelnen Gewebelemente charakteristischen Eigenschaften festgestellt.

3. Es wird eine Methode zur Beobachtung der Fluoreszenz in Geweben bei gleichzeitiger Erhaltung der Lokalisation leichtlöslicher, fluoreszierender Körper angegeben. Mit Hilfe dieser Methode ist eine Lokalisationsermittlung vieler Stoffe möglich, bei denen diese bisher schwer oder nicht gelang.

II. Die grüne Fluoreszenz pflanzlicher Gewebe bei Alkalizusatz.

1. Art und Auftreten der Fluoreszenz.

Bei der Untersuchung pflanzlicher Gewebe im filtrierten, ultravioletten Licht fiel auf, daß sich fast alle untersuchten Schnitte pflanzlicher Objekte einem Zusatz von etwas Natronlauge gegenüber gleichartig verhielten. Wurde nämlich dem Präparat ein Tropfen 5%ige Natronlauge zugesetzt, so leuchteten die Gewebe sofort intensiv grün auf. Die Farbe ist ein sattes, etwas gelbliches Grün. Dieses Aufleuchten erstreckt sich über die ganzen Schnitte und beschränkt sich nicht nur auf die Zellumina, vielmehr leuchten die Zellwände selbst ebenso intensiv auf. Bei Schnitten von *Tradescantia discolor*, die gut in Wasser ausgewaschen worden waren, zeigten sogar nur die Zellwände allein die grüne Fluoreszenz. Das Aufleuchten der Gewebe erfolgt vollkommen parallel dem Vordringen der Natronlauge im Präparat. Hat endlich die Lauge den Schnitt über-

schwemmt, so treten an dessen Rand Schlieren grüner Fluoreszenz in das optisch leere Medium aus — es wurde meist Wasser oder Alkohol verwendet — bis dieses endlich selbst homogen grün leuchtet. Dieselbe Erscheinung rufen neben Natronlauge in gleicher Weise auch Kalilauge, Ammoniak, Natriumkarbonat und andere Alkalien hervor.

Die grüne Fluoreszenz verschwindet sofort wieder, wenn man Salzsäure oder Schwefelsäure* in genügender Menge zufügt und erscheint wieder bei abermaligem Zusatz von Natronlauge.

Dieselben Verhältnisse wie die Gewebe selbst zeigen auch deren wässrige und alkoholische Extrakte; der fluoreszierende Körper ist also in Wasser und wasserhaltigem Alkohol löslich.

Die grüne Fluoreszenz ist ungemein weit verbreitet und kommt sowohl an frischem als auch an Alkoholmaterial vieler Pflanzen der verschiedensten systematischen Stellung beobachtet werden. Sie war bei *Spirogyra* und *Oedogonium* ebenso zu finden wie bei *Dictamnus*, *Atropa*, *Linaria*, bei *Tradescantia*, *Zea*, *Iris* und vielen anderen Pflanzen. Der fluoreszierende Körper ist im Pflanzenreich weit verbreitet**, liegt also nicht außerhalb des allen Pflanzen gemeinsamen, allgemeinsten Stoffwechsels***.

2. Lokalisierung im Schnitt.

Die eben beschriebene, grüne Fluoreszenz ist über alle Gewebe verbreitet, jedoch ist eine engere Lokalisation in bestimmten Gewebspartien nicht ausgeschlossen, da ja die Leichtlöslichkeit des Körpers dessen sofortige Verteilung im Schnitt und im umgebenden Medium begünstigt, so daß ein Bild allgemeiner Verteilung vorgetäuscht werden könnte. Es wurde also versucht, eine engere Lokalisation nachzuweisen.

1. Gut in Wasser ausgewaschene Schnitte zeigten die Fluoreszenz in allen Geweben, jedoch nur mehr in den Zellwänden.

2. Stengelquerschnitte von *Zea mays* wurden in 10% iger Natronlauge kurze Zeit gekocht. Die Lösung färbte sich gelb und zeigte die bekannte, grüne Fluoreszenz. Die Schnitte wurden gut ausgewaschen und dann im Fluoreszenzmikroskop beobachtet:

* Konzentrierte oder wenig verdünnte Schwefelsäure ruft in Geweben ebenfalls grüne Fluoreszenz hervor, auch ohne vorherige Alkalibehandlung. So kommt es, daß beim Zusatz der Säure die Fluoreszenz nur vorübergehend verschwinden und dann eventuell wieder erscheinen kann. Dieses Aufleuchten entspricht dann jedoch nicht der besprochenen Alkalifluoreszenz, sondern dem Aufleuchten mit starker Säure.

** Auch Pflanzen wie *Soja hispida* u. a., die nach Zusatz von Natronlauge zum Schnitt keine grüne Fluoreszenz zeigten, wiesen diese doch nach Erhitzen mit 10% iger Natronlauge im Wasserbad auf.

*** Die Möglichkeit, daß nicht ein einheitlicher Körper vorliegt, daß vielmehr die grüne Fluoreszenz heterogenen Ursprunges ist, bleibt offen.

a) in Wasser:

Kutikula	schwach grün
Parenchym	0
Verholzte Elemente	grün

b) in Alkohol:

Kutikula	0
Parenchym	0
Verholzte Elemente	grün

Bis zur Mazeration in NaOH gekochte Stengelstücke von *Zea mays* zeigten dieselben Verhältnisse.

3. *Pinus* sp. Holz, in SCHULZESchem Gemisch mazeriert, gut ausgewaschen, zeigt schwach graue Fluoreszenz. Nach Kochen mit etwas Natronlauge: leuchtend grün.

4. *Aloë*-Hanf. Die Fasern in Wasser schwach blau. Mit Natronlauge gekocht: Fasern und Lösung stark grün.

Bei den Versuchen 3 und 4 trat die Fluoreszenz erst nach dem Kochen auf, jedoch nicht sofort wie in den Schnitten von *Zea*.

Es zeigt sich also, daß nach dem Waschen der Schnitte immer noch die Zellwände und nach Entfernung dieser Fluoreszenz immer noch die verholzten Elemente grün leuchten, ferner, daß sich aus verholzten Geweben durch Behandlung mit Natronlauge die grüne Fluoreszenz erzeugen läßt.

3. Modellversuche mit reinen Substanzen.

1. Zellulose.

a) Reinste Watte (fluoresziert schwach violett) wurde mit 10% iger Natronlauge versetzt und bis zu 10 Stunden gekocht. Weder sofort noch nach kurzem und längerem Kochen irgendeine grüne Fluoreszenz (nach 10 Stunden schwach blauviolett).

b) Reinste Watte wurde mit 10% iger Salzsäure gekocht. Dann, auch nach Zufügung eines Überschusses von Natronlauge nur schwach violette Fluoreszenz.

2. Phosphatide.

a) *Soja*-Lecithin, 65% ig. Die braune, sirupartige Masse fluoresziert graublau, stellenweise graugrün, die wässrige Lösung bläulich. Mit etwas 5% iger Natronlauge ändert sich die Farbe in Blaugrün, jedoch ohne Erhöhung der Fluoreszenzintensität, im Gegensatz zu der grünen Fluoreszenz der Gewebe und Extrakte, deren Intensität nach Zusatz der Natronlauge eine vielfach höhere ist als vorher (wenn vorher überhaupt Fluoreszenz vorhanden war).

b) *Soja*-Lecithin, 65% ig. Eine alkoholische Lösung fluoresziert stark gelblichgrün. Nach Zusatz von Natronlauge nur noch blaugraue Fluoreszenz.

c) Pflanzenlezipithin (MERCK). Die wässrige Lösung fluoresziert als solche und nach Zusatz von Natronlauge schwach blau, die feste Substanz blau, stellenweise grün. Lezipithin unterscheidet sich also von dem gesuchten Körper einerseits dadurch, daß Natronlauge keine vielfache Erhöhung der Fluoreszenzintensität herbeiführt und anderseits dadurch, daß die grüne Fluoreszenz des Lezipithins durch Natronlauge eher geschädigt und verdrängt anstatt hervorgehoben wird.

3. Aminosäuren.

Wie schon früher (S. 130) angegeben wurde, fluoreszieren die Aminosäuren in wässriger Lösung oder fest hellblau bis violett. Nach Zusatz von Natronlauge ändern sich die Verhältnisse nur unwesentlich. Grüne Fluoreszenz war in keinem Falle zu beobachten. Auch nach dem Kochen tritt keine grüne Fluoreszenz auf.

4. Zucker.

- a) 1. Saccharose. Eine wässrige Lösung mit 5% Natronlauge: 0.
Dasselbe, 4 Stunden am Wasserbad: Lösung farblos.

Fluoreszenz: blaugrün.

2. Saccharose. Eine wässrige Lösung mit 10% Salzsäure:
sauer und alkalisch 0.

Dasselbe, 4 Stunden am Wasserbad:

Fluoreszenz: schwach grün; nach Zufügung eines Überschusses von Natronlauge:

Fluoreszenz: gelblichgrün.

- b) 1. Glukose (MERCK) in 5% Natronlauge: 0.

Dasselbe, 5 Minuten am Wasserbad erhitzt: Lösung gelb.

Fluoreszenz: grün (auch in vielfacher Verdünnung).

Dasselbe, 5 Stunden am Wasserbad erhitzt: Lösung braun.

Fluoreszenz: blaugrün.

2. Glukose (MERCK) in 10% Salzsäure: sauer und alkalisch: 0.
Dasselbe, 5 Stunden am Wasserbad erhitzt: Lösung gelblich.

Fluoreszenz: 0.

Nach Zusatz eines Überschusses von Natronlauge.

Fluoreszenz: grün.

- c) 1. Maltose in 5% Natronlauge: 0.

Dasselbe, 15 Minuten am Wasserbade: Lösung rotbraun.

Fluoreszenz: grün (auch in vielfacher Verdünnung).

2. Maltose in 10% Salzsäure: sauer und alkalisch: 0.

Dasselbe nach 8 Stunden Wasserbad (nach 5 noch nicht): Lösung gelblich.

Fluoreszenz: grau.

Nach Zusatz eines Überschusses von Natronlauge.

Fluoreszenz: grün.

- d) 1. Fruktose in 5% Natronlauge: 0.
Dasselbe, 15 Minuten am Wasserbad erhitzt: Lösung rotbraun.
Fluoreszenz: grün (auch in vielfacher Verdünnung).
2. Fruktose in 10% Salzsäure: sauer und alkalisch: 0.
Dasselbe, bereits nach einer Stunde am Wasserbad, Lösung gelb.
Fluoreszenz: weißlich.
Mit einem Überschuß von Natronlauge: Lösung braun.
Fluoreszenz: grün (auch in vielfacher Verdünnung).
- e) 1. Galaktose in 5% Natronlauge: Lösung gelb.
Fluoreszenz: 0.
Dasselbe, 15 Minuten am Wasserbad erhitzt: Lösung rotbraun.
Fluoreszenz: grün.
Dasselbe, 5 Stunden am Wasserbad erhitzt: ebenso.
2. Galaktose in 10% Salzsäure: sauer und alkalisch: 0.
Dasselbe, 5 Stunden am Wasserbad erhitzt.
Fluoreszenz: grau.
Nach Zusatz eines Überschusses von Natronlauge:
Fluoreszenz: grün.
- f) 1. Mannit in 5% Natronlauge: 0.
Dasselbe, erst nach 24 Stunden am Wasserbad.
Fluoreszenz: mattgrün.
2. Mannit in 10% Salzsäure: sauer und alkalisch: 0.
Dasselbe, nach 5 Stunden Kochen: 0.
Mit Überschuß von Natronlauge: 0.
- g) 1. Rhamnose in 5% Natronlauge: 0.
Dasselbe, 10 Stunden am Wasserbad erhitzt, Lösung braun.
Fluoreszenz: grün.
2. Rhamnose in 10% Salzsäure: sauer und alkalisch: 0.
Dasselbe, 10 Stunden am Wasserbad erhitzt.
Fluoreszenz: grün.
(Mit Natronlauge keine Erhöhung der Intensität.)

Aus obigen Versuchen geht hervor, daß sich aus Zuckern durch Behandlung mit Alkalien oder Säuren ein Körper bildet, der im alkalischen Medium und im filtrierten, ultravioletten Licht grün (gelblich-grün) fluoresziert. Die Intensität dieser Fluoreszenz ist eine vielfach größere als die der nicht vorbehandelten Lösungen, wie auch der mit Säure behandelten. Die Farbe ist, nach subjektiver Beurteilung, dieselbe wie die der in der Pflanze beobachteten Fluoreszenz.

Entsprechend ihrem Gehalt an Zuckern müssen also die Glykoside bei gleicher Behandlung ebenfalls grüne Fluoreszenz zeigen. Dies ist auch tatsächlich der Fall:

Querzitrin:

1. in 5% Natronlauge: Lösung rotbraun.

Fluoreszenz: 0.

Dasselbe, 15 Minuten am Wasserbad erhitzt: 0.

Fluoreszenz: 0.

Dasselbe, 5 Stunden am Wasserbad erhitzt.

Fluoreszenz: grün.

2. Aufschwemmung in 10% Salzsäure.

Fluoreszenz: schwach gelb.

Dasselbe, 5 Stunden am Wasserbad erhitzt.

Fluoreszenz: grau.

Mit einem Überschuß von Natronlauge: Lösung braun.

Fluoreszenz: grün.

Nach 24 Stunden am Wasserbad ebenso, jedoch stärker.

Ähnlich wie das Querzitrin verhalten sich auch das Aesculin und das Fraxin.

Bei den Zuckern zeigte sich eine deutliche Übereinstimmung im Auftreten der Gelb- oder Braunfärbung der Zucker und dem Erscheinen der beschriebenen grünen Fluoreszenz.

Das fluoreszierende Produkt destilliert: 2% Glukose in 10% iger Natronlauge erst 4 Stunden am Wasserbad, dann bei 100° in der Wasserdampf-Destillationsapparatur: Rückstand: grüne Fluoreszenz. Destillat schwach hellblau. Mit einem Überschuß von Natronlauge: grün⁶⁻¹¹.

Kalilauge und Ammoniak geben die gleichen Resultate wie Natronlauge.

5. Stärke.

Die analog den Versuchen mit Zuckern durchgeführten Versuche mit verschiedenen Sorten pflanzlicher Stärke ergaben dieselben Ergebnisse wie bei den Zuckern. Nach Zusatz oder nach längerem oder kürzerem Erhitzen mit Natronlauge, sowie nach Erhitzen mit Säure und darauffolgendem Alkalischemachen mit Natronlauge war dieselbe grüne Fluoreszenz zu beobachten.

Die grüne Fluoreszenz auf Alkalizusatz läßt sich also aus Holz, Stärke und den Zuckern darstellen. Ob in allen Fällen derselbe Körper Träger der Fluoreszenz ist, läßt sich bisher nicht entscheiden. Dies wird vielleicht durch genaue, spektroskopische Bestimmung des emittierten Fluoreszenzlichtes, sowie durch Feststellung der erregenden Wellenlängenbereiche (siehe Einleitung) möglich werden. Untersuchungen darüber sind im Gange.

Ebenso läßt sich über die chemische Beschaffenheit des fluoreszierenden Körpers erst dann Bestimmtes aussagen, wenn exakte, von subjektiver Farbbeobachtung unabhängige Vergleiche mit reinen Substanzen möglich werden.

Wie schon oben (S. 132 und 133) angegeben, zeigen folgende Körper grüne Fluoreszenz, deren Farbe der Zucker-Alkali-Fluoreszenz entspricht:

- | | |
|---------------------------|--------------------------------------|
| 1. Formaldehyd, 40% ig | 0 |
| + etwas HCl | 0 |
| + etwas NaOH | schwach grün |
| 2. Glycerinaldehyd, fest | grünblau |
| in Wasser | hell blaugrün |
| mit etwas NaOH | blaugrün, ohne Intensitätssteigerung |
| 3. Brenztraubensäure | gelbgrün |
| mit etwas NaOH | grün |
| 4. Dioxiazeton, in Wasser | hellblau |
| mit etwas NaOH | blaugrün, Intensitätsverminderung. |

5. Grüne Fluoreszenz zeigen neben Glykosiden (*Diervilla japonica*) auch noch die Aglukone Aesculetin und Fraxetin, sowie möglicherweise andere Aglukone. Da diese Produkte jedoch aus Glykosiden hergestellt werden, ist die Möglichkeit einer Verunreinigung durch die grüne Fluoreszenz der Zucker gegeben, die dann die Eigenfluoreszenz vortäuschen würde.

Die Aminosäuren sowie die Zellulose zeigen keinerlei grüne Fluoreszenz, kommen also zur Erklärung der Fluoreszenz im Gewebe nicht in Betracht. Auch die Phosphatide müssen beiseite gelassen werden, da deren Fluoreszenz durch Natronlauge nicht verstärkt, sondern vielmehr geschwächt wird. Auch ist die grüne Gewebsfluoreszenz weder durch eine Eiweiß- und Phosphatidfällung durch Blei noch durch Azeton zu entfernen. Gefällte Extrakte von *Zea mays* zeigten nach wie vor die Fluoreszenz in gleicher Stärke. Zur Erklärung der grünen Fluoreszenz bleiben also noch die Brenztraubensäure und ähnliche 3-C-Körper, unbekannte, von Zuckern abgeleitete Körper, die in vitro wohl nur durch verhältnismäßig grobe Behandlung der Zucker zu erhalten sind, die jedoch in der Pflanze bereits als solche oder doch vorgebildet vorliegen können, Glykoside und Aglukone und endlich die Holzsubstanz, von der ähnliches gelten mag wie eben über die Zucker gesagt wurde. (Daß verholzte Organe auch ohne weitere Vorbehandlung in Schnitten manchmal grün fluoreszieren, wurde schon bei Besprechung der Gewebelemente (S. 141) erwähnt.)

4. Der Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration.

Da bekanntlich die Fluoreszenz dem pH-Wert des Mediums entsprechend Änderungen in der Farbe und der Intensität unterworfen ist, so läßt sich ein Vergleich zweier Fluoreszenzen auch auf Grund ihres spezifischen Verhaltens bei verschiedenen pH-Werten durchführen.

Die grüne Fluoreszenz im pflanzlichen Gewebe tritt von pH 7 bis pH 7,5 als Umschlagspunkt über den ganzen alkalischen Bereich hin ein,

ist bei pH 7 bis 7,5 noch etwas bläulich grün, bei pH 8 und darüber jedoch bereits gelbgrün.

Soja hispida. Ein Stengelstück wurde in 5%iger Natronlauge drei Stunden hindurch am Wasserbad erhitzt. Die Lösung nahm braungelbe Farbe an und fluoreszierte blaugrün bis in große Verdünnungen. Eine 15fache Verdünnung dieser Lösung wurde mit Salzsäure neutralisiert und je 5 ccm davon mit je 2 ccm n/15 Phosphatpuffer versetzt. Die Lösungen von pH 5 bis pH 7 fluoreszierten graublau, die von pH 7,5 und pH 8 grün und mit stärkerer Intensität. Das gleiche Ergebnis zeigten Schnitte von *Zea mays*, die in je 3 ccm Phosphatpuffer durch $3\frac{1}{2}$ Stunden am Wasserbad erhitzt worden waren. Die Lösungen färbten sich schwach, mit zunehmendem pH stärker gelb und behielten ihren pH-Wert bei, wie nachträglich eine Kontrolle mittels des Universalindikators von MERCK ergab.

Zum Vergleich wurden nun auch die Umschlagspunkte bei den Modellversuchen mit reinen Substanzen ermittelt.

Aesculetin und Fraxetin haben ihren Umschlagspunkt von Rosa zu Grün bei pH 6.

Die grüne Fluoreszenz der Zucker erscheint bei pH 7 als blaugrüne Fluoreszenz, die bei pH 7,5 bereits gelbgrün ist.

Je 0,5 g Glukose (KAHLBAUM) wurden mit je 3 ccm Phosphatpuffer am Wasserbad durch $3\frac{1}{2}$ Stunden erhitzt. Nach dem Erkalten zeigte der MERCKsche Universalindikator noch die richtigen Wasserstoffionenkonzentrationen an. Die Lösungen von pH 5,5 und pH 6 waren farblos, die übrigen zunehmend gelb bis braun gefärbt. Von pH 5,5 bis pH 6,5 war die Fluoreszenz graublau, bei pH 7 blaugrün mit gesteigerter Intensität und ab 7,5 gelbgrün.

Der Umschlagspunkt liegt also bei pH 7.

Die grüne Fluoreszenz der Pflanzengewebe zeigt also auch, was ihr Verhalten bei verschiedenen Wasserstoffionenkonzentrationen anbelangt, große Ähnlichkeit mit der aus den Zuckern gewonnenen, was die Vermutung stützen mag, daß die im Gewebe vorhandene grün fluoreszierende Substanz selbst ein Kohlehydrat bzw. ein Zucker oder ein Derivat dieser ist.

Zusammenfassung II.

1. Pflanzliche Gewebe fluoreszieren nach Behandlung mit Natronlauge in alkalischem Medium intensiv grün.

2. Auch die Zellwände sind befähigt, diese Erscheinung zu zeigen.

3. In Modellversuchen zeigte sich, daß Holz, Stärke und verschiedene Zucker bei Behandlung mit Natronlauge eine ähnliche Fluoreszenz geben. Auch Brenztraubensäure und andere 3-C-Körper fluoreszieren, ohne weitere Vorbehandlung, im alkalischen Medium grün.

4. Die Gewebsfluoreszenz zeigte mit der aus Zucker gewonnenen gewisse Ähnlichkeiten. Das Verhalten bei verschiedenen pH-Werten ist bei beiden dasselbe. Der Umschlagspunkt liegt bei pH 7. Mit dem Eintreten der grünen Farbe der Fluoreszenz steigert sich auch deren Intensität auf das Vielfache des früheren Wertes.

III. Lokalisationsermittlung der fluoreszierenden Glykoside von *Aesculus hippocastanum*.

Wie bereits festgestellt wurde, leuchten unter allen in der Pflanze vorkommenden Stoffen am stärksten einige Alkaloide und besonders die phenolischen Glykoside auf, wenn sie im filtrierten, ultravioletten Lichte betrachtet werden. Manche dieser Stoffe fluoreszieren so stark, daß man bereits im Tageslicht ihre Fluoreszenz wahrnehmen kann. So ist auch die Fluoreszenz des Chinins wie auch die des Aesculins schon seit langem bekannt.

Infolge des Mangels an geeigneten Methoden zum Nachweis der Glykoside, im besonderen des Aesculins und des Fraxins hat man auch die Fluoreszenz zu ihrem Nachweis herangezogen*. Freilich ist die Farbe sowohl, wie auch das Verhalten gegen chemische Einflüsse oder bei veränderten pH für das Aesculin (es läßt sich aber auch für alle anderen Stoffe das Gleiche sagen) nicht spezifisch, da auch andere Stoffe, z. B. das Skopolin⁴⁹, das Skimmin, das Hydrangin⁴⁹ und das Fraxin gleichartige Fluoreszenzerscheinungen geben.

Auf Grund der Fluoreszenz allein ist also bisher, wie schon in der Einleitung zu dieser Arbeit erwähnt wurde, ein eindeutiger Nachweis fluoreszierender Substanzen mit den qualitativen Methoden der Fluoreszenzanalyse bisher nicht möglich. Eine qualitative und quantitative Spektralanalyse des Fluoreszenzlichtes wird ergeben, ob ein eindeutiger Nachweis von Stoffen auf Grund der Fluoreszenz überhaupt möglich ist.

Bisher muß also vorerst durch mikrochemische Reaktionen das Vorhandensein des betreffenden Stoffes, in unserem Falle des Aesculins (bzw. des Fraxins) in einer bestimmten Pflanze und für die bestimmten Organe sichergestellt sein, so daß die Identität des fluoreszierenden Stoffes festgestellt ist. Dann erst kann auf Grund der Fluoreszenz die Verteilung des betreffenden Stoffes ermittelt werden. Zur Bestimmung der Lokalisation ist aber, wie später noch gezeigt wird, die Fluoreszenz eine äußerst gute und brauchbare, man möchte fast sagen die ideale Methode.

* An mikrochemischen Reaktionen ist nur die Fällung als Dibromäsculin brauchbar (TUNMANN O., Schweiz. Wochenschr. f. Chem. u. Pharm. LIV, 1916, 45—47), die jedoch keine exakte Lokalisationsbestimmung ermöglicht, sowie die Spaltung mit Schwefelsäure in Äsculetin und Glukose und nachfolgender Sublimation des Aglukons nach H. GERBERS; jedoch ist auch dieser Nachweis kein lokalisierter.

Die folgenden Untersuchungen sollen die qualitative Verteilung des Aesculins in *Aesculus hippocastanum* feststellen.

1. Methodik.

Die Untersuchungen von WEEVERS, der die Fluoreszenz als Methode benutzte⁶¹, wurden ohne besondere Hilfsmittel durchgeführt. Es wurden Extrakte hergestellt und diese ohne weitere Apparatur (nähere Angaben sind in der zitierten Arbeit nicht zu finden) wohl bei Tageslicht auf ihre Fluoreszenz geprüft. Es wurde lediglich das Vorhandensein einer Fluoreszenz oder deren Fehlen konstatiert. Dabei ist wichtig, daß man makroskopisch, durch bloße Beobachtung im besten Falle noch 0,0001% Aesculin in einem Extrakt erkennen kann, während man bei Beobachtung im filtrierten ultravioletten Licht noch 0,000001% Aesculin mit Sicherheit wahrnehmen kann, so daß der Nachweis also im reinen, ultravioletten Licht um etwa das Hundertfache empfindlicher ist als bei gewöhnlichem Tageslicht. (Tatsächlich sind in reinen Lösungen auch noch weniger als 0,000001% deutlich zu erkennen.)

Zur makroskopischen Beobachtung wurden die Objekte mit einem reinen, vorher auf Fluoreszenzfreiheit geprüften Messer quer oder längs geschnitten, so daß schöne, ebene Schnittflächen vorhanden waren. Dann wurde das Objekt in den Kegel des ultravioletten Lichtes gebracht, der sich zwischen der Filtergarnitur und dem Quarzprisma des Mikroskopes befindet. Die aesculin- oder fraxinhaltigen Teile leuchten intensiv blau auf und heben sich in schärfstem Kontrast von den in anderen Farben matt leuchtenden, glykosidfreien Geweben ab. Die Intensität der Fluoreszenz nimmt an derartigen Schnittflächen binnen kurzer Zeit ab. Die Ursache davon liegt darin, daß das Aesculin erstens in trockenem Zustande überhaupt schwächer fluoresziert als in Lösung, und daß zweitens beim Austrocknen der Gewebe vielfache Reflexionen an den Zellwänden stattfinden, die ebenfalls die Intensität des ausgestrahlten Lichtes schwächen. Die Organe müssen also immer in möglichst frischem Zustande untersucht werden. Jedoch kann man, wie bereits erwähnt wurde, auch an solchen trockenen Organen die Fluoreszenz wieder sichtbar machen, und zwar dadurch, daß man die Schnitte oder die Schnittfläche mit geeigneten Flüssigkeiten anfeuchtet. Für das Aesculin, sowie auch für die meisten anderen Glykoside kommen dafür Äther, Petroläther und Tetrachlorkohlenstoff in Betracht, da diese Stoffe die Glykoside nicht lösen und also verhindern, daß durch das Herauslösen der fluoreszierenden Substanz aus den Zellen das ganze Organ oder der ganze Schnitt mit Fluoreszenz überschwemmt wird, wie das beim Befeuchten mit Wasser der Fall ist (Seite 136).

Ebenso werden zur mikroskopischen Betrachtung der Schnitte diese erst trocken mit dem Mikrotom geschnitten (es wurde dazu das frische

Material von der Pflanze verwendet), dann, ebenfalls trocken zwischen das Deckglas und den Objektträger gebracht und erst knapp vor dem Beobachten mit Äther oder Petroläther versetzt. Die Schnitte leuchten sofort mit einer, gegen die der trockenen Schnitte vielfach verstärkten Intensität auf. Nach dem verhältnismäßig raschen Abdunsten des Äthers wird neuerdings Äther hinzugefügt, bis die Beobachtung abgeschlossen ist.

Das zu beobachtende Material soll jedoch trotzdem möglichst frisch sein, und zwar darum, weil ein in der Pflanze vorhandenes Ferment instande ist, das Aesculin zu spalten.

Die Spaltung des Aesculins zeigte sich deutlich an einem Extrakt aus einer jungen Pflanze von *Aesculus hippocastanum*. Sofort nach seiner Herstellung fluoreszierte der Extrakt in rein blauer Farbe und mit großer Intensität. Nach vierundzwanzigstündigem Stehen leuchtete derselbe Extrakt nur noch matt, und zwar in grüner Farbe auf. Beim vielfachen Verdünnen erst trat wieder die blaue Fluoreszenz auf. Die Erklärung dieses Phänomens liegt darin, daß das in dem Extrakt vorhandene Ferment das Aesculin fast quantitativ in Aesculetin und Glukose aufspaltete, ein Gemisch, das intensiv grüne Fluoreszenz aufweist, wie noch später gezeigt wird. Da jedoch die Fluoreszenz des Aesculins bis zu weit größeren Verdünnungen noch sichtbar ist als die grüne Fluoreszenz des gespaltenen Aesculins, so verschwindet beim vielfachen Verdünnen des Extraktes die grüne Fluoreszenz endlich vollständig, während die blaue des noch ungespaltenen Restes an Aesculin noch deutlich sichtbar ist.

Ebenso wie das im Extrakt ursprünglich vorhandene Aesculin in dem Extrakt gespalten wird, so wird auch reines Aesculin (SCHUCHARDT), das dem Extrakt zugefügt wird, glatt gespalten.

Die Spaltung des Aesculins läßt sich auch in vitro mit reinen Substanzen (Aesculin oder Fraxin) und einem Präparat von Emulsin durchführen (vgl. dazu ^{62, 63}). Das Spaltungsprodukt zeigt dieselben Fluoreszenzerscheinungen wie der oben beschriebene Extrakt.

2. Verteilung der fluoreszierenden Glykoside in *Aesculus hippocastanum*.

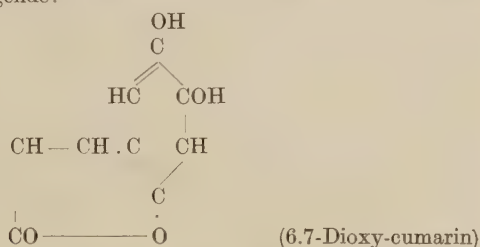
Über die Verteilung des Aesculins in den Geweben von *Aesculus hippocastanum* liegen nur wenige Angaben vor. TH. WEEVERS ⁶¹ gibt für die Verteilung des Aesculins in Keimlingen folgendes Schema:

	Normale Keimlinge	Etiolierte Keimlinge
Kotylen	—	—
Kotylstiele	+	+
Stengelrinde	+	+
Blattstiele	+	—
Blätter	—	—
Hypocotyles Internodium	+	+
Wurzel	—	—

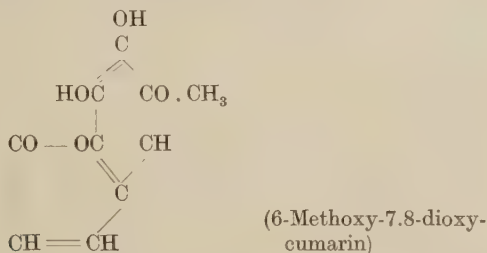
In der erwachsenen Pflanze wird das Aesculin als hauptsächlich in der Rinde vorkommend angegeben.

Das Vorkommen des Aesculins in *Aesculus hippocastanum* ist seit langer Zeit sichergestellt (hat doch das Glykosid, das aus dieser Pflanze zum erstenmal dargestellt wurde, von ihr seinen Namen!). Nach den Untersuchungen von STOKES enthält *Aesculus hippocastanum* neben dem Aesculin auch noch Fraxin.

Die Strukturformel des Aesculetins ist nach TIEMANN und WILL und nach WILL und PUKALL (zitiert nach J. J. VAN RIJN, Die Glykoside, Berlin 1900, S. 292) folgende:



Die Strukturformel des Fraxetins hingegen lautet nach den neuen Untersuchungen von WESSELY und DEMMER⁶² wie folgt:



Das Aesculetin und das Fraxetin und mit diesen das Aesculin und das Fraxin stehen sich also chemisch sehr nahe. Dieser Umstand bewirkt auch, daß eine Trennung der beiden Glykoside auf große Schwierigkeiten stößt.

Es existiert zwar eine Methode, nach der der Nachweis beider nebeneinander möglich sein soll²⁰, jedoch ist auch dieser Nachweis nicht sehr überzeugend. Der Unterschied der beiden Produkte äußert sich dort in der Kristallgröße des Sublimates sowie in einer Temperaturdifferenz der Sublimationspunkte um 6°! Dabei wurde im EDERschen Apparat sublimiert, also während längerer Zeit. Daß dabei leicht Senkungen des Sublimationspunktes auftreten können ist bekannt. Auch können andere, im Gewebe vorhandene Stoffe die Sublimationspunkte verschieben — so daß dieser Nachweis wohl erst einer genauen Überprüfung zu unterziehen wäre.

Eigene Untersuchungen auf fluoreszenzanalytischem Gebiete haben eine völlige Übereinstimmung des Fluoreszenzspektrums von Aesculin und Fraxin ergeben. Auch in allen anderen physikalischen Eigenschaften verhalten sich Aesculin und Fraxin gleich.

Sind jedoch tatsächlich Aesculin und Fraxin gleichzeitig in *Aesculus hippocastanum* vorhanden, so beobachten und bestimmen wir mit unseren fluoreszenzanalytischen Methoden also die Summe der Glykoside Aesculin und Fraxin, abgesehen davon, in welchem Mengenverhältnis sie tatsächlich vorhanden sind. Beide Glykoside haben jedoch phenolischen Charakter; es ist also mit Sicherheit anzunehmen, daß beide Stoffe derselben Stoffwechselkette zuzuordnen sind, daß beiden die gleiche Stellung und Funktion im physiologischen System des Stoffwechsels zukommt. Diese Überlegung läßt eine getrennte Bestimmung des Aesculins und des Fraxins nebeneinander als vorläufig nicht unbedingt notwendig erscheinen. Es ist doch vorerst überhaupt ein Überblick über qualitative und quantitative Verteilung der Glykoside, sowie über deren Wandel im Laufe des Jahres und während der Keimung zu gewinnen. Dann erst wird es sich zeigen, ob und inwieweit eine getrennte Bestimmung der beiden Glykoside in *Aesculus* notwendig sein wird.

Die Organe wurden zur Untersuchung durch einen Radialschnitt in zwei Hälften geteilt, wobei natürlich nur ein vollständig trockenes Messer verwendet werden darf und die Schnittflächen darauf im ultraviolettten Licht auf Fluoreszenz geprüft. Zur Kontrolle wurden teilweise auch Querschnitte hergestellt. Blätter wurden in Querschnitten untersucht.

Zur Sichtbarmachung von Spuren wurden die negativen Organe zerkleinert mit Wasser extrahiert. In Lösung wurden so auch Spuren noch sichtbar. Dabei ist allerdings noch zu beachten, daß jeder pflanzliche Extrakt, falls keine stärker fluoreszierenden Stoffe besonderer Art in ihm vorhanden sind, schwach blau fluoresziert, und zwar mit einer Intensität, die etwa 0,0000001% Aesculin entspricht. Als „Spur“ wurden also nur Lösungen mit mehr als 0,000001% Fluoreszenzintensität bezeichnet.

An einem erwachsenen, mäßig großen Exemplar von *Aesculus hippocastanum* (Garten der Universität Wien) wurde zu verschiedenen Zeiten folgende Verteilung des fluoreszierenden Glykosidbestandes festgestellt.

16. XI. 1928. Ast, blattlos.

Maximale Mengen im Bast bzw. in der Kambialzone. Viel in der Markkrone. Nichts im Markparenchym, nichts im äußeren Rindengewebe. Das Mark besitzt an manchen Stellen grüne bis braune Farbe. An diesen Stellen ist auch blaugrüne Fluoreszenz vorhanden. Die Rinde

fluoresziert, soweit sie glykosidfrei ist, makroskopisch nicht, das Holznur schwach violett, noch schwächer das Mark, dieses oft gelblich*.

16. XI. 1928. Knospen.

Das Mark unterhalb der Knospen leuchtet intensiv blaugrün bis grün auf**. Die Fluoreszenz der Kambialzone des Astes setzt sich in den Knospenschuppen fort. Die Blattanlagen sind fluoreszenzfrei. Das Mark des Zweiges, der die Knospe trägt, enthält ebenfalls Glykosid, und zwar mehr als dies sonst im Mark vorzukommen pflegt.

Am 21. XI. 1928 waren bei Ast und Knospe die Verhältnisse dieselben. Ebenso war nach zwei Monaten am 17. I. 1929 nach einer großen Kälteperiode (Frost bis zu -30° ! Winter 1928/29) gleiche Lokalisation der fluoreszierenden Glykoside zu beobachten:

Knospenschuppen	++
Blattanlagen	0
Mark, bräunlich	stark grünblau
Mark, hellgelb	0; stellenweise blau +
Holz	0
Kambialzone, inneres Rindengewebe	+++
Außeres Rindengewebe	0

(Bei obigen Angaben bedeutet + deutliche Fluoreszenz, ++ starke und +++ sehr starke Fluoreszenz blauer Farbe.)

Ein alter, abgestorbener Zweig zeigte keine Glykosidfluoreszenz; Holz schwach violett, Mark gelblich.

8. III. 1929. Gleiche Verteilung wie am 21. XI. 1928 und am 17. I. 1929, Blattanlagen jedoch teilweise blaugrün. Abb. 2 stellt die Verteilung in einem Aststück und in einer Knospe dar.



Abb. 2

17. IV. 1929. Ast mit austreibenden Knospen. Junge Blätter: Spur im wässerigen Extrakt. Mark unterhalb der Knospe nun rein blau (nicht

* Die Verteilung des fluoreszierenden Glykosides läßt sich zwar unvollkommen aber doch in brauchbarer Form konservieren: man befeuchtet die Schnittfläche schwach mit Wasser oder verdünntem Alkohol und preßt sie gegen ein Stück reines, möglichst fluoreszenzfreies Filterpapier. Auf diesem sind dann noch nach langer Zeit die Konturen der glykosidföhrnden Gewebe blau fluoreszierend zu sehen.

** Auch die blaugrüne Fluoreszenz stammt vom Äsculin und Fraxin. Samen oder Rinde von *Fraxinus ornus* leuchten, obwohl sie nur Fraxin enthalten, intensiv blaugrün bis grün, ebenso deren unverdünnte Extrakte. Die Farbe dieser Fluoreszenz ist (subjektiv beurteilt) der des fermentativ gespaltenen Fraxins vollständig gleich. Auf diese Art der Fluoreszenz dürfte sich die Bemerkung von H. GERBERS beziehen, die behauptet, daß Fraxin im Gewebe anders fluoresziere als das Aesculin. Reines Fraxin fluoresziert blau. Vielleicht liegt schon im Gewebe eine Fermentspaltung vor, oder aber nur das Aglukon.

mehr blaugrün), Markkrone ++, Kambialzone und inneres Rindengewebe +++, äußeres Rindengewebe 0, Knospenschuppen ++.

26. IV. 1929. Austreibende Blütenknospen. Blütenanlage: wässriger Extrakt +, junge Blätter fast 0. Deckschuppe am unteren Ende grün, in wässrigem Extrakt ++.

7. V. 1929. Junger Trieb. Stamm: Rinde grün, Markkrone grün, Bastteil ++. Blattstiel: Bast ++, Rinde, Mark grün. Blattrippe ebenso. Blattlamina 0. In Wasser Spur.

Ein und zwei Jahre alte Äste zeigen dieselben Verhältnisse wie früher (16. XI.; 21. XI.; 17. I.; 8. III.; usw.).

Blütenstände verhalten sich wie die jungen Stammtriebe. Blüten 0.

3. VI. 1929. Fruchtstand.

Fruchstiele	grün
Fruchtfleisch	0
Samenanlagen	grün bis ++
Kambialzone der Fruchstiele knapp unterhalb der Frucht	ebenso

21. VI. 1929. Heuriger Ast.

Blattlamina	0
in Wasser	Spur
Blattrippe, Blattstiel	grün
Stamm	gleiche Verteilung wie im Winter
Knospenschuppen	+++
Basis der Knospe	+++
Blattanlagenbasis	grün
Mark unterhalb der Knospe	grün

14. IX. 1929. Situation die gleiche wie am 21. VI. 1929.

Frucht: Frucht- gehäuse, äußere Gewebschichten	intensiv blaugrün
dasselbe, innere Ge- webschichten	+++
Fruchtstiel	wie der Stamm.
Same: Samenschale	0
Kotyledonen	0; stellenweise, be- sonders am Rand manchmal +

15. X. 1929. Dieselben Verhältnisse wie im Nov. 1928.

Blattstiele	grün
Blattlamina	0
Blattrippen	grün

Verholzte Wurzeln zeigen die gleichen Verhältnisse wie der Stamm. Kambialzone +++.

Die Verteilung der fluoreszierenden Glykoside ändert sich also qualitativ in allen jenen Organen, die bereits älter sind als eine Vegetationsperiode, nicht. In allen jüngeren Organen finden wir statt der blauen meist nur oder doch neben der blauen Fluoreszenz eine blaugrüne oder rein grüne.

April/März 1929.

Keimlinge von *Aesculus hippocastanum*, in Erde gezogen, belichtet.

Gequollene Samen fluoreszieren so wie die trockenen.

Die Verteilung der Fluoreszenz während der Keimung läßt sich am besten durch folgende, schematische Darstellung ersichtlich machen.

(In den Abbildungen bedeuten punktierte Flächen die Verteilung der mattgrünen Fluoreszenz und die schwarzen Flächen und Linien die der blauen und der blaugrünen Glykosidfluoreszenz.)

Abb. 3	Radikula	hellblau*
	Embryo	0
	Gewebe um den	
	Embryo	++ blaugrün
	Kotyledonen	0**
	Samenschale	0
	Wurzelspitze	hellblau
Abb. 4	Nebenwurzeln	hellblau bis hellgelb
	Embryo	0
	Kotyledonen am Rand	++ blaugrün
	Kotylstiele	ebenso
	Hypokotyl	grün
	Samenschale	0



Abb. 3



Abb. 4

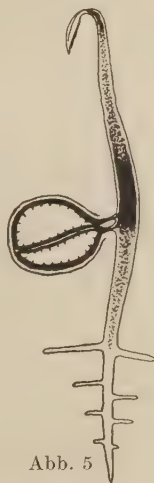


Abb. 5

* Die hellblaue Fluoreszenz der Wurzelspitzen ist vielen Wurzeln gemeinsam eigen und stammt nicht von Aesculin oder Fraxin.

** Nach Zusatz von NH_3 färbt sich die Schnittfläche der Kotyledonen gelb und fluoresziert sehr intensiv gelb, mikroskopisch betrachtet gelbgrün. Dieselbe Reaktion wird durch Natronlauge hervorgerufen. Die Gelbfärbung mit NH_3 ist ein Beweis für die Anwesenheit von Glykosiden, die aber als solche im Gewebe nicht fluoreszieren (vgl. dazu VAN RIJN und TH. WEEVERS, a. a. O.).

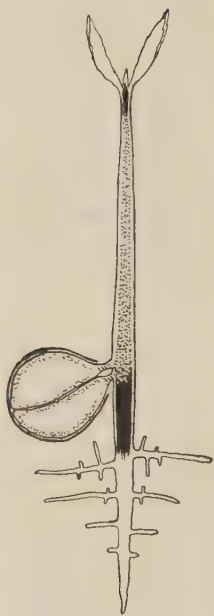


Abb. 6

Abb. 5	Blatt	0
	Jüngster Stamm	grün
	Epikotyl	blaugrün
	Hypokotyl im Mark	grün
	Wurzel	hellblau
	Seitenwurzel	ebenso
	deren Spitzen	gelb
	Kotylstiele	grün
	Kotyledonen	stellenweise +
	„ am Rand	grün

In einem etwa vierzehn Tage älteren Stadium ist die Verteilung folgende:

Abb. 6	Blätter	Spur (in Wasser)
	Vegetationsspitze	intensiv grün
	Stamm; Mark	mattgrün (wie Blattstiele)
	Hypokotyl	intensiv blaugrün
	wässriger Extrakt	hellblau
	Wurzel	ebenso
	Seitenwurzeln	wie früher
	Kotylstiele	grün
	Kotyledonen	0
	deren Ränder	mattgrün

Während der Keimung ist also die Farbe der Fluoreszenz im Gewebe fast überall grün. Blaue, in Wasser extrahierbare Fluoreszenz von großer Intensität, also Glykosidfluoreszenz, findet sich primär nicht im Samen. An manchen Stellen der Kotyledonen findet man Spuren von Glykosid. Im Verlauf des Keimungsprozesses bildet das Gewebe um den Embryo herum (Kotylstiele! Damit übereinstimmend TH. WEEVERS, a. a. O.) fluoreszierende Substanz. Gleichzeitig beginnen die Randschichten der Kotyledonen zu fluoreszieren. Eine zweite Zone grüner Fluoreszenz befindet sich bei fortschreitender Keimung, durch ein teilweise nicht fluoreszierendes Stück vom Embryo getrennt, am unteren Ende des Hypokotyls, bzw. am Beginn der Wurzel im Mark. Gegen unten hin wird die Fluoreszenz intensiver und bläulicher. Nach der Entfaltung des Keimlings findet sich im jungen Stamm blaugrünes Glykosid, das allem Anschein nach teils aus den Kotylstielen stammen dürfte, teils aber neu gebildet wurde. Das noch abgebogene Stammstück, das die jungen Blätter trägt, fluoresziert intensiv grün. Die Intensität der Fluoreszenz nimmt nun im Stamm bald etwas ab, so daß die Verhältnisse nun dieselben sind wie in den jungen Trieben älterer Bäume. Die stärkste Fluoreszenz besitzt nunmehr das

Hypokotyl (und die Wurzel). Die Farbe ist blaugrün. Die rein blaue Fluoreszenz des Aesculins und des Fraxins tritt dann langsam in der Kambialzone sowie im Mark auf, und zwar am frühesten in den ältesten Teilen.

Aus allen obigen Beobachtungen läßt sich erkennen, daß die rein blaue Glykosidfluoreszenz nur in den Organen zu finden ist, deren Längenwachstum beendet ist, während alle jene Organe, deren Länge noch zunimmt, noch die blaugüne bzw. die rein grüne Fluoreszenz der Blattstiele zeigen (vergleiche dazu die Anmerkung auf S. 155). Diese Regel findet jedoch nur für überwinternde Organe Anwendung. Blatt und Blattstiel führen in frischem Zustande immer nur grüne, nie aber rein blaue Fluoreszenz.

Das Glykosid scheint also in den wachsenden und assimilierenden Organen gebildet oder doch vorgebildet zu werden, und in den nicht-assimilierenden Organen mit beendetem Längenwachstum, mit Ausnahme der Samen, in großen Mengen gespeichert zu sein.

Die grüne Fluoreszenz der jungen Organe läßt sich mit Wasser bedeutend schwerer extrahieren als die Aesculin-Fraxinfluoreszenz. Der betreffende, fluoreszierende Körper ist also in Wasser schwerer löslich als Aesculin und Fraxin. Die helle blaugüne Fluoreszenz des Markes und der Blattanlagen ist nun in Wasser fast ebensogut extrahierbar wie die blaue und geht bei mehr oder weniger großer Verdünnung in die blaue über. Bedeutend schwerer löslich ist hingegen die grüne des jungen Stamm- und des Blattstielgewebes. Auch ist die Intensität dieser gegenüber jener geringer und die Farbe bedeutend matter. Es handelt sich also hier um zwei Fluoreszenzen verschiedenen Ursprunges. Die Ähnlichkeit der ersteren mit der eines Gemisches von Aesculin und Aesculetin (die Farbe schlägt beim Verdünnen in blau über) läßt annehmen, daß es sich im Gewebe hier ebenfalls um eine Mischung von Glykosid und Aglukon handelt. (Wie schon früher, S. 155, bemerkt wurde, fluoresziert Fraxin in *Fraxinus*-Samen und jüngerer Rinde ebenso.) Die reinen Aglukone des Aesculins und des Fraxins fluoreszieren in Lösung grün (vgl. dazu S. 131). Die Fluoreszenz der Blattstiele muß durch andere Stoffe bedingt sein, die weniger intensiv fluoreszieren (oder in geringerer Menge vorhanden sind) und schwerer wasserlöslich sind*.

* In diesem Zusammenhang ist interessant festzustellen, daß sich im Blattstiel sowohl wie auch in der Rinde (vergleiche dazu die später angegebenen mikroskopischen Beobachtungen) fast immer eindeutig größere Mengen von Phenolen nachweisen lassen. (Nach unveröffentlichten Untersuchungen.) Der Nachweis der Phenole geschah in essigsaurer Lösung mit Xanthydrol (die näheren Details des Nachweises sowie seine Ergebnisse werden demnächst im Rahmen einer Harnstoff-Arbeit veröffentlicht werden), das mit Phenolen Schwarz- oder Rotfärbung gibt. Da Phenole blau, manchmal

Um die mikroskopische Verteilung der fluoreszierenden Glykoside festzustellen, wurden Querschnitte durch die betreffenden Organe in Äther unter dem Fluoreszenzmikroskop beobachtet.

5. V. 1929. Einjähriger Ast, quer:

Äußeres Rindengewebe	grün
Periderm	0
inneres Rindengewebe, Phloëm	+++! rein blau
Holz, äußere Zone	+
„ innere Zone	0
Markkrone	++
Mark	+

7. V. 1929. Blattstiel, quer:

Bastteil der Gefäßbündel	++
--------------------------	----

Im Mark, innerhalb des Gefäßbündelringes viele, hellgrün leuchtende Idioblasten. Diesen verdankt der Blattstiel seine makroskopisch beobachtete grüne Fluoreszenz.

Junger, heuriger Ast, quer:

Inneres Rindengewebe, Phloëm	++
------------------------------	----

Ebensolche, jedoch noch bedeutend mehr grüne Idioblasten wie im Blattstiel.

Blattrippe, quer:

Verhält sich ebenso wie der Blattstiel: Bast ++; über den Schnitt verteilt grüne Idioblasten.

Knospenschuppen, quer:

Der ganze Schnitt, mit Ausnahme der Epidermis +++!

grün fluoreszieren, kommen sie als erregende Substanz in Frage. Die Menge der freien Phenole schwankt zwar im Laufe einiger Tage stark, während die Fluoreszenz der Blattstiele konstant bleibt. Jedoch fluoreszieren auch substituierte Phenole noch zum Teil grün (Phenolsalicylat, Aesculetin, Fraxetin, Dioxybenzoesäure), sodaß eine möglicherweise stattfindende Bindung der Phenole mit anderen Körpern, die das Verschwinden der Phenole, das mit der Xanthhydrolyse zu beobachten ist, bedingen können, sich im Fluoreszenzbild nicht äußern müßte. Es ist also durchaus möglich und wahrscheinlich, daß die grüne Fluoreszenz der Blattstiele durch Phenol-derivate, vielleicht auch Gerbstoffe bedingt ist. Der physiologische Weg zum Aesculin und Fraxin führt über Phenole. Aus allem obigen zeigt sich also, daß die jungen Äste, sowie die Blattstiele das brauchbarste Material zur Ergründung des Aufbaues der fluoreszierenden Glykoside darstellen werden. Erwähnenswert ist hier noch, daß Blattstiele, die weder makro-, noch mikroskopisch, noch im Extrakt blaue Fluoreszenz aufweisen, nach 24stündigem Trocknen bei 60 bis 100° einen wäßrigen Extrakt von blauer Fluoreszenz liefern. (Vgl. dazu WEEVERS, a. a. O., der eine Entstehung des Aesculins im Blattstiel annimmt).

17. X. 1929. Blattstiel, quer:

Kutikula	leuchtet hell
Rindengewebe	grünlich, teils bräunlich
Bastfasern	+
Bast	++
Holz	grün
Mark	++

Zentrale, im Mark gelegene Bündel:

Mark (im Bündel)	grün ++
------------------	---------

Junger, heuriger Ast, quer:

Periderm	rosa
Rindengewebe	braun, mit grünen und blauen Idioblasten
Bastfasern	+++!
Kambium	fast 0 !!!
Holz, äußere Schichten	+++!
„ innere Schichten	+ bis ++
Mark	+ bis ++

Ältere, verholzte Wurzel, quer:

Rindengewebe	braun, mit grünen und blauen Idioblasten
Holz	++

Verteilung der Fluoreszenz der im Stamm vollständig analog.

Jüngere, verholzte Seitenwurzel, quer:

Genau so wie die ältere Wurzel, jedoch etwas geringere Intensität des Blau. Die äußeren Rindengewebsschichten zeigen eine, der der Idioblasten des Blattstieles ähnliche, grüne Fluoreszenz.

21. X. 1929.

Wässrige Extrakte aus eben noch grünen Blättern fluoreszieren intensiv grün, solche aus bereits vergilbten Blättern schön blau.

Die Verbreitung des Aesculins erstreckt sich also über die inneren Rindengewebsschichten, den Bastteil und besonders über die Bastfasern. Ebenso enthält das jüngere Holz fluoreszierendes Glykosid. Verhältnismäßig große Mengen finden sich auch in der Markkrone und stellenweise im Mark selbst. Wenn überhaupt Glykosidfluoreszenz vorhanden ist, so ist sie im Bastteil lokalisiert.

Methodisch ergibt sich aus obigen Untersuchungen folgendes: Neben der blauen Glykosidfluoreszenz tritt eine grüne auf. Es wird zu untersuchen sein, ob und inwieweit die grüne Fluoreszenz mit den Glykosiden, bzw. den zugehörigen Phenolen zusammenhängt.

Es zeigt sich, daß die grüne Fluoreszenz makroskopisch geringe blaue Fluoreszenz verdecken kann (Blattstiel), so daß also neben der makroskopischen immer eine mikroskopische Beobachtung durchgeführt werden muß.

Zusammenfassung III.

1. Es wurde die Fluoreszenz der Organe von *Aesculus hippocastanum* während einer Vegetationsperiode verfolgt, und zwar einerseits makroskopisch und andererseits mikroskopisch.

2. Es konnte die genaue Lokalisation der fluoreszierenden Glykoside (Aesculin, bzw. Fraxin) ermittelt werden. Diese bleibt sich in Organen, die nicht assimilieren und ihr Längenwachstum vollendet haben, qualitativ das ganze Jahr über gleich. Eine Ausnahme bilden die Samen, die bei Beginn der Keimung um den Embryo herum den fluoreszierenden Stoff bilden.

3. Die fluoreszierenden Glykoside sind hauptsächlich in den inneren Rindengewebsschichten, in den Bastfasern, immer in den Knospenschuppen, ferner in der Markkrone und manchmal auch im Mark vorhanden.

4. Jüngere Organe zeigen statt der blauen eine grüne Fluoreszenz, deren Herkunft noch nicht geklärt werden konnte.

Literatur

- ¹ Andant A. Compt. rend. Acad. Sciences, **185**, 713, 1928.
- ² Bayle E. u. Fabre R. Compt. rend. Acad. Sciences, **178**, 632 (C. 1924, I, 1745).
- ³ — — —. Ebendort, **178**, 2181 (C. 1924, II, 1158).
- ⁴ Bayle E., Fabre R. u. George H. Bull. Soc. chim. France (4), **37**, 89, 1925.
- ⁵ — — —. Chim. et Ind., **17**, 179, 1927.
- ⁶ Bernhauer K. u. Schön K. Biochem. Zeitschr., **202**, 159, 1928.
- ⁷ Bernhauer K. u. Nistler J. Ebendort, **205**, 230, 1929.
- ⁸ Bernhauer K. Ebendort, **210**, 175, 1929.
- ⁹ — — —. Ebendort, **210**, 186, 1929.
- ¹⁰ Bernhauer K. u. Wolf A. Ebendort, **212**, 443, 1929.
- ¹¹ Bernhauer K. u. Görlich B. Ebendort, **212**, 452, 1929.
- ¹² Danckwortt P. W. u. Pfau E. Arch. Pharmaz. u. Ber. deutsch. pharmaz. Ges., **265**, 68, 1927.
- ¹³ — — —. Ebendort, **265**, 560, 1927.
- ¹⁴ Danckwortt P. W. Lumineszenzanalyse im filtrierten, ultravioletten Licht. Leipzig 1928.
- ¹⁵ Fabre R. Bull. Soc. chim. France (4), **37**, 1304, 1925.
- ¹⁶ — — —. Bull. Soc. Chim. biol., **7**, 1024, 1925.
- ¹⁷ H. Fischer u. Hilmer. Zeitschr. f. physiol. Chem., **143**, 413, 1924.
- ¹⁸ F. Fischler. Zeitschr. f. physiol. Chem., **175**, 237, 1928.
- ¹⁹ George H. u. Bayle E. Compt. rend. Acad. Sciences, **178**, 1895 (C. 1924, II, 916).
- ²⁰ Gerbers H. Pharmaz. Presse, 1923, Heft 1 bis 3.
- ²¹ Haitinger M. u. Reich V. Allgemeine Weinzeitung, **44**, Nr. 22, 1927.

- ²² Haitinger M., Linsbauer K. u. Reich V. Biochem. Zeitschr. 1929.
²³ Heimstädt O. Zeitschr. wiss. Mikr., **28**, 330, 1911.
²⁴ —. Ebendort, **21**, Heft 2/3, 1911.
²⁵ Heller R. C. 1916, II, 1049.
²⁶ Kauffmann H. u. Beißwenger A. Zeitschr. physikal. Chem., **50**, 350, 1904.
²⁷ Klein G. u. Fuchs W. Biochem. Zeitschr., **213**, 40, 1929.
²⁸ Kögel G. Photograph. Korrr., **64**, Nr. 1, 1928.
²⁹ —. „Die chemische Fabrik“, **1**, 55, 1929.
³⁰ —. „Die Fluoreszenzanalyse“, G. Klein, Handb. d. Pflanzenanalyse.
Berlin (J. Springer), 1930.
³¹ Lenz W. Zeitschr. f. analyt. Chem., **54**, 27, 1915.
³² Linsbauer K. Bot. Arch., **23**, 441, 1929.
³³ Lukas F. F. Iron Age, **117**, 555 (C. 1926, I, 2963).
³⁴ Mayerhofer A. Pharmaz. Post 1914.
³⁵ Metzner P. Biochem. Zeitschr., **148**, 498, 1924.
³⁶ —. Zeitschr. wiss. Mikr., **45**, 51, 1928.
³⁷ Metzner-Zimmermann. „Das Mikroskop“, Wien 1928.
³⁸ Molisch H. „Mikrochemie der Pflanze“, 3. Aufl., 1922 (Seite 188).
³⁹ Müller A. Die Riechstoffindustrie, 1927, Heft 13.
⁴⁰ Newton Harvey E. Amer. Journ. Physiol., **77**, 555, 1926 (Ber. ges. Physiol.,
40, 44, 1927).
⁴¹ Noack K. Zeitschr. f. Bot., **17**, 481, 1925.
⁴² —. Verh. d. phys.-med. Ges. zu Würzburg, N. F., **50**, 47, 1925.
⁴³ Policard A. Bull. d'histol., **2**, 317.
⁴⁴ Prowazek S. Kleinwelt, Zeitschr. d. deutsch. mikr. Ges., **6**, 1914.
⁴⁵ Reich V. u. Haitinger M. Allg. Weinzeitung, **44**, Nr. 18, 1927.
⁴⁶ — —. Ebendort, **44**, Nr. 6, 1927.
⁴⁷ — —. Ebendort, **44**, Nr. 7, 1927.
⁴⁸ Reichert C. Physik. Zeitschr., **12**, 1010, 1911.
⁴⁹ Van Rijn J. J. L. „Die Glykoside“. Berlin 1900.
⁵⁰ Stübel H. Pflügers Arch., **142**, 1, 1911.
⁵¹ Tschirch A. „Die Harze und die Harzbehälter“, 2. Aufl. Leipzig 1906.
⁵² Tswett M. Ber. d. deutsch. Bot. Ges., **29**, 744, 1911.
⁵³ Tunmann O. Schweiz. Wochenschr. f. Chem. u. Pharm., **54**, 45, 1916.
⁵⁴ Tutin F. The Pharm. Journ. and Pharmacist., 1912, Febr. 10.
⁵⁵ Wasieky R. Pharm. Post, **46**, 877, 1913.
⁵⁶ —. Ebendort, **62**, 17, 19129.
⁵⁷ Wasieky R. u. Wimmer C. Zeitschr. f. Nahr.- u. Genußm., **30**, 25, 1915.
⁵⁸ Wasieky R. Ber. d. deutsch. Bot. Ges., **33**, 37, 1915.
⁵⁹ —. Handb. d. prakt. u. wiss. Pharm. Berlin-Wien 1924.
⁶⁰ Wasieky R. u. Joachimowitz M. Arch. d. Pharm., **497**, 1917.
⁶¹ Weevers Th. Jahrb. f. wiss. Bot., **39**, 229, 1904.
⁶² Wessely F. u. Demmer E. Ber. d. deutsch. Chem. Ges., **61**, 1279, 1928.
⁶³ — —. Ebendort, **62**, 120, 1929.
⁶⁴ Wilschke A. Zeitschr. wiss. Mikr., **31**, 338, 1914.

***Ochrosphaera neapolitana*, nov. gen., nov. spec., eine neue Chrysomonade mit Kalkhülle**

Von

Bruno Schussnig (Wien)

(Mit 4 Textabbildungen)

Im Sommer 1928, während meines Aufenthaltes an der Zoologischen Station in Neapel, trat in einigen Kulturschalen an den dem Licht zugewendeten Wänden wie auch an der Wasseroberfläche ein braungelber Überzug auf, der meine Aufmerksamkeit in Anspruch nahm. Dieser Überzug bestand aus zahllosen, gelbbraun gefärbten Zellen, die sich in kürzester Zeit zu solchen ansehnlichen Ansammlungen vermehrt hatten. Die vielfachen Zweier- und Vierergruppen, die sich darin fanden, zeugten für diese Vermehrungstätigkeit.

Zum ersten Male trat dieser Organismus in jenen Kulturschalen auf, in denen ich verschiedene Siphoneen-Materialien von den Sireneninseln im Golfe von Salerno zog. Später, und zwar auch in den Kulturen die ich in Wien zog, trat der fragliche Organismus auch in Kulturen von Materialien des Neapler Golfes auf, so daß man daraus den Schluß ziehen darf, daß er im ganzen Gebiet und wahrscheinlich auch darüber hinaus, verbreitet ist. Er kommt auch epiphytisch auf verschiedenen größeren Algen vor, wie ich mich des öfteren überzeugt habe. In diesen Fällen findet man aber immer nur vereinzelte Zellen vor, die nur dann auffallen, wenn man den Organismus bereits kennt. In Kulturgefäßen, bei üppiger Entfaltung, kann er auch größere Algen dicht überziehen; meist zieht er aber die senkrechten Wände vor, die dem Lichte zugekehrt sind und vor allem die freie Wasseroberfläche, die er in den Sommermonaten mit einem wasserblütenartigen Hauch mitunter ganz bedeckt. Auch auf Agar, den ich mit SCHREIBERScher Meerwassernährlösung herstellte, gedeiht diese. Organismus ganz gut. Ich gehe jetzt daran, Reinkulturen herzustellen, um dann diese in mannigfacher Art bemerkenswerte Form einer genaueren entwicklungsgeschichtlichen und zytologischen Untersuchung zu unterziehen. Die folgenden Zeilen haben daher vorerst den Charakter einer vorläufigen Mitteilung und sollen bloß dazu dienen, den Organismus bekannt zu machen, den ich als ***Ochrosphaera neapolitana*** bezeichnen will.

Das einzelne Individuum stellt eine runde Zelle von 4,7 bis 6 μ im Durchmesser dar, die in ihrem Innern zwei große, schalenförmig gebogene Chromatophoren umschließt. Die Ränder der Chromatophoren sind unregelmäßig sanft gelappt und verlaufen oft fast parallel zueinander (Abb. 1 d). Letzteres trifft meistens in jungen Individuen zu (Abb. 1 a, d), während in älteren Zellen die Chromatophoren etwas mehr auseinanderweichen, so daß der Spalt zwischen den beiden am nächsten gelegenen Chromatophorenrändern weiter und unregelmäßig erscheint (Abb. 1b, 2 a). Außerdem enthält die Zelle eine wechselnde Menge von kleineren und größeren Öltropfen sowie eine oder mehrere Volutinkugeln. Der Kern ist in der Einzahl vorhanden und nimmt ungefähr die Mitte des Kugelraumes ein. Im frischen Zustand ist er nur selten zu erkennen.

Die Zelle ist von einer deutlich sichtbaren, also relativ dicken Hülle umgeben, an deren Oberfläche — bei schwächeren Vergrößerungen besehen — eine grobkörnige Struktur wahrnehmbar ist (Abb. 1 bis 3). Diese Struktur rührt daher, daß die eigentliche Hülle mit eigentümlichen Gebilden aus kohlensaurem Kalk durchsetzt ist (Abb. 4 a). Die Grundsubstanz der Hülle erscheint nach Entfernung der Inkrustation vollkommen glatt und gibt mit Chlorzinkjod keine Zellulosereaktion.

Die Fortpflanzung dieses Organismus geschieht auf zweierlei Art: Durch Teilung und durch Schwärmer.

Bei der vegetativen Vermehrung durch Teilung spielt sich dieser Vorgang in der Weise ab, daß die Mutterzelle zuerst in zwei Hälften zerfällt, die dann durch einen auf die ursprüngliche Teilungsebene senkrecht gerichteten Teilungsschritt in vier Tochterindividuen zerteilt werden. Während dieser zwei aufeinanderfolgenden Teilungsschritte bleibt die Mutterhülle erhalten, wenngleich ihre Oberfläche zunehmen muß, weil das Volumen im Viererstadium bedeutend größer geworden ist. Sowohl die Zweier- als auch die Viererindividuen sind durch ganz feine Membranen voneinander getrennt, die nur bei Zusatz von Reagentien sichtbar werden. Schließlich trennen sich die Tochterindividuen, indem

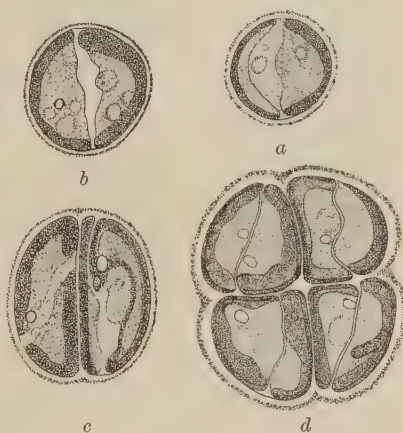


Abb. 1. *Ochrosphaera neapolitana*. a, b vegetative Zellen. c, d Teilungsstadien. Vergr. 3500fach.

sie sich von der Mutterhülle befreien. Man findet daher sehr oft leere Hüllen zwischen den lebenden Zellen, die irgendwo aufgerissen sind. Auf die soeben beschriebene Art kann sich der Organismus, mit Ausnahme vielleicht der Wintermonate, fast das ganze Jahr vermehren. Es will mir scheinen, daß *Ochrosphaera* in den Wintermonaten ein \pm ausgesprochenes Ruhestadium durchmacht. Die Zellen sind jetzt schon stark mit Assimilaten erfüllt. Doch ganz erlischt die Teilungstätigkeit auch

in den Wintermonaten nicht, was sich am besten zur Zeit der Übertragung auf frischen Agar konstatieren läßt.

Diese Art der Vermehrung kann somit fast das ganze Jahr hindurch verfolgt werden und hat sicherlich die ausgedehnten Ansammlungen von Zellen, wie ich sie eingangs beschrieb, zur Folge. Schon in Neapel, als ich den in Rede stehenden Organismus zuerst beobachtete, vermutete ich, daß auch noch Schwärmer vorhanden sein müßten, denn anders konnte ich mir den Umstand nicht erklären, daß an den Wänden der Kulturgefäße die braunen Anflüge entstanden. Der Organismus kam doch mit den in Kultur genommenen Algen in die Schalen und mußte daher von diesen schwimmend die dem Lichte



Abb. 2. *Ochrosphaera neapolitana*. *a* vegetative Zelle in Ruhe. *b* Teilung vor der Schwärmerbildung. *c* ein ausgetretener Schwärmer, der sich unmittelbar nach dem Ausschlüpfen an der Mutterhülle festgesetzt und mit einer neuen Hülle umgeben hat. Die in der Mutterhülle zurückgebliebene Schwesterzelle nimmt nun fast den ganzen Innenraum ein. Vergr. 3500 fach.

zugekehrte Schalenwand erreichen. In Neapel hatte ich aber nicht viel Zeit, um mich diesem Organismus zu widmen. Erst Ende Juli des vergangenen Jahres gelang es mir, die Schwärmerbildung zu verfolgen.

In genanntem Monat trat an der Oberfläche einer Kulturwanne, in der ich *Caulerpa* aus Neapel zog, eine schöne Wasserblüte von *Ochrosphaera* auf. Ich untersuchte dieses Material, welches nach der Üppigkeit in der Entfaltung zu urteilen, schon in bester Entwicklung begriffen war. Ich fand neben den mir schon bekannten Teilungsstadien auch solche, die mir gleich als abweichend auffielen. Wie die Schwärmerbildung nun vor sich geht, läßt sich an der Hand der Abb. 2 und 3 erläutern. Die runde, vegetative Zelle (Abb. 2 *a*) macht innerhalb der Kalkhülle eine Zweiteilung durch (Abb. 2 *b*). Diese zwei Tochterzellen teilen sich aber nicht mehr weiter, sondern durch Auflockerung und Durchbrechung

der Hüllsubstanz gleitet die eine Tochterzelle aus der Mutterhülle heraus (Abb. 3 a). Die eine Hälfte verbleibt somit in der Mutterhülle, vergrößert ihr Volumen, bis der Innenraum wieder ganz von der zurückbleibenden Zelle ausgefüllt ist (Abb. 2 c). Dies hat wiederum zur Folge, daß die Hülle besonders mächtig werden kann, weil sie offenbar durch längere Zeit hindurch, durch mehrere Generationen, immer wieder Kalksubstanz eingelagert bekommt.

Die Herausschlüpfende Tochterzelle verbleibt kurze Zeit in unmittelbarer Nähe der Mutterhülle und ist zunächst von einer vollkommen glatten, unstrukturierten Hülle umgeben (Abb. 3 a). Bald nimmt man



Abb. 3. *Ochrosphaera neapolitana*. Austritt des Schwärmers und dessen weitere Entfaltung. Die eingezeichneten Stadien a bis d zeigen die Veränderungen des Schwärmers innerhalb von 20 Minuten. Vergr. 3500fach.

aber an ihr eine leichte wackelnde Bewegung wahr, wodurch sie sich immer mehr von dem Austrittsort entfernt. Es ist dies der Zeitpunkt, in welchem die Geißeln entfaltet werden. In Abb. 3 a bis d habe ich vier aufeinanderfolgende Stadien der Entwicklung eines und desselben Schwärmers festgehalten. Der in dieser Abbildung dargestellte Entfaltungsvorgang dauerte etwa 20 Minuten! In Abb. 3 b sieht man zunächst, wie am Geißelpol die Geißeln ausgestreckt werden. Wichtig ist auch, daß zu dieser Zeit — also wenige Minuten nach dem Ausschlüpfen — die Schwärmerhülle eine leichte Punktierung aufweist, wie sie vielfach von freilebenden Chrysomonadinen bekannt ist. Ob diese Struktur auch aus Kalk besteht, konnte ich noch nicht nachweisen. In c und d nimmt die Strukturierung der Schwärmeroberfläche immer mehr zu und zu gleicher Zeit treten die zwei Geißeln ganz deutlich in Erscheinung. Es ist eine etwa körperlange Hauptgeißel und eine etwa um ein Drittel kürzere Nebengeißel. Sie entspringen nicht an einem gemeinsamen Insertionspunkt, sondern wie dies gerade für die Reihe der *Ochromonadales*

charakteristisch ist, etwas voneinander entfernt. Der Geißelpol des Schwärmers ist schräg abgestutzt. Im Innern des Schwärmers liegen parietal zwei gebogene Chromatophorenplatten vom gleichen Aussehen wie die der unbeweglichen Zellen. Am rückwärtigen Pol befinden sich kleine Tröpfchen, die möglicherweise aus Volutin bestehen; eine genaue Reaktion habe ich bisher nicht vorgenommen. Ein Augenfleck ist nicht vorhanden.

* * *

Wenn Bau und Begeißelung der Schwärmer den in Rede stehenden Organismus zu einem Angehörigen der Ochromonadalen-Reihe stempelt, so ist die Verkalkung der Hülle ein Merkmal, welches aus dieser

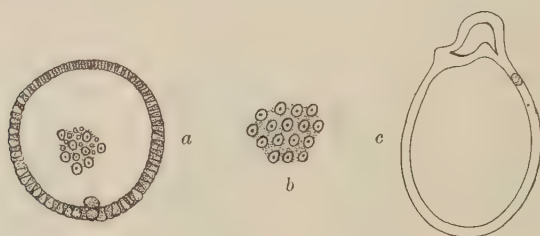


Abb. 4. *Ochrosphaera neapolitana*. Feinerer Bau der Kalkhülle. *a* im optischen Durchschnitt und ein Teil der Flächenansicht. *b* Detail der Flächenansicht bei einer älteren Hülle. *c* Austrittsöffnung des Schwärmers in der Hülle.

Vergr. 3500fach.

Verwandtschaftsreihe, soweit unsere Kenntnisse reichen, herausfällt. Ich möchte daher noch einige Bemerkungen über diese merkwürdige Hülle einschalten. Wenn man namentlich entleerte Hüllen bei starker Immersions-Vergrößerung untersucht, so sieht man, daß sich die „körnige Struktur“ in eine Reihe von keilartig ausgebildeten Kalkkörperchen auflöst, die radial in der Grundsubstanz der Hülle drinstecken. Sie sind nicht alle gleichmäßig dick (Abb. 4 *a*), was uns verständlich erscheint, wenn wir an das Flächenwachstum der Hülle denken, die, wie weiter oben gezeigt wurde, ganz sicher vorhanden ist. In Abb. 4 *a* ist ein optischer Durchschnitt und ein Stück der Flächenansicht dargestellt. In der Fläche zeigen diese Kalkkörperchen in ihrer Mitte einen dunkleren Punkt, den ich bloß für eine optische Erscheinung halte. In Abb. 4 *b* ist wiederum ein Flächenbild einer anderen Hülle gezeichnet und man sieht, daß der Durchmesser aller Kalkkörperchen gleich ist. Ich fasse das so auf, daß diese Hülle schon erwachsen war und daher keine neuen Kalkkörperchen zwischen die bereits bestehenden hineingeschoben wurden, wie dies offenbar in Abb. 4 *a* der Fall ist.

Ferner fand ich häufig — wenn auch nicht durchwegs — Hüllen, in denen an irgend einer Stelle ein viel größeres, ziemlich stark ins Innere der Hülle hineinragendes Kalkkörperchen, welches außer durch seine Gestalt auch noch durch die rostbraune Farbe vor den übrigen auffällt. Da bei Zusatz von Salzsäure alle Kalkkörper verschwinden, so muß ich annehmen, daß auch dieses abweichend geformte Gebilde aus Kalk besteht. Ob diesem fraglichen Gebilde irgend eine bestimmte Bedeutung zukommt, kann ich nicht sagen. Mit der Bildung der Öffnung steht es bestimmt nicht in direktem Zusammenhang, weil diese sehr häufig daneben entsteht (Abb. 4 c).

Die Kalkkörper der *Ochrosphaera*-Hülle erinnern nicht nur wegen ihrer chemischen Zusammensetzung, sondern auch wegen ihrer Gestalt ein wenig an die Kalkkörper von *Hymenomonas*. Auch hier sind die Kalkkörper, wie aus der Untersuchung E. KAMPTNERS hervorgeht, in der Hüllenmembran eingelagert. Noch auffallender ist die Ähnlichkeit mit der von CHODAT und ROSILLO beschriebenen *Pontosphaera stagnicola*. *Ochrosphaera* stellt somit einen sehr interessanten Konvergenzfall zu den Coccolithophoriden dar, hat aber mit diesen, auf Grund der verschiedenen Begeißelung ihrer Schwärmer, sicher nicht denselben Ursprung. Auch das Verbleiben des einen Tochterindividuums in der Mutterhülle, während das andere ausschlüpft und zum Schwärmer wird, erinnert an den von J. SCHILLER beschriebenen Fall von *Calypptosphaera oblonga* unter den Coccolithophoriden. An eine Verwandtschaft von *Ochrosphaera* mit diesen ist aber trotzdem nicht zu denken, weil der genannte Vorgang auch bei den Ochromonaden bekannt ist; man denke bloß an *Dinobryon*!

Ich fasse daher *Ochrosphaera neapolitana* als einen derzeit isoliert dastehenden Typus auf, der sich aber direkt an die Ochromonaden anschließt. Ob man diesen Typus noch zu diesen rechnet oder in die Nähe der Chrysosphaeralen stellt, ist bei dem derzeitigen Stand der Dinge mehr Geschmacksache. Auf jeden Fall muß *Ochrosphaera* auch in letzterem Zusammenhang als Vertreter einer derzeit noch monotypen Familie — die *Ochrosphaeraceae* zu heißen hat — gelten. Bloß wegen der Unbeweglichkeit dieser Form sie mit den eingeißeligen Chrysosphaeraceen zusammenzuziehen, kann ich mich nicht entschließen, denn ganz abgesehen von der Kalkhülle, ist für mich die Begeißelung immer noch das Hauptkriterium, nach welchem man die einzelnen Familien der Chrysomonaden und deren Abkömmlinge einzuteilen hat. Gerade der Fall von *Ochrosphaera*, als Konvergenztypus betrachtet, zwingt uns dazu, uns streng an den Modus der Begeißelung der Schwärmer zu halten.

Wien, Botanisches Institut, im Januar 1930.

Literatur

Chodat R. und Rosillo, Sur une Coccolithophoridée d'eau douce. C. R. d. séances d. l. Soc. d. physique et d'hist. nat. de Genève, T. 42, 1925.

Conrad W., Sur les Coccolithophoracées d'eau douce. Arch. f. Prot., 63, 1928.

Kamptner E., Über eine Coccolithophoride aus der „Alten Donau“ bei Wien, nebst einigen systematischen Bemerkungen. Arch. f. Prot., 61, 1928.

Pascher A., Süßwasserflora, Heft 2, 1913.

DERSELBE, Die braune Algenreihe der Chrysophyceen. Arch. f. Prot., 52, 1925.

Schiller J., Über Fortpflanzung, geißellose Gattungen und die Nomenklatur der Coccolithophoraceen, nebst einer Mitteilung über Copulation bei *Dinobryon*. Arch. f. Prot., 53, 1926.

Schussnig B., Betrachtungen über das System der niederen Pflanzen. Verh. d. zool.-bot. Ges. Wien, 74/75, 1925.

Phykologische Beiträge II.

Von

Bruno Schussnig (Wien)

(Mit 4 Textabbildungen)

In meinem ersten Beitrag (siehe diese Zeitschrift, Jahrg. 77, 1928, S. 161 bis 172) veröffentlichte ich einige Beobachtungen, die ich in den Jahren 1914/15 an der damaligen Zoologischen Station in Triest angestellt hatte. Ich bringe in dem vorliegenden Aufsatz noch einen Nachtrag dazu und außerdem einige Ergebnisse von zufälligen Beobachtungen, die ich vor zwei Jahren während meines Aufenthaltes an der Zoologischen Station in Neapel gemacht habe. Auch dieses Mal handelt es sich nicht um Angaben, welche den Anspruch auf Vollständigkeit erheben können; ich publiziere sie bloß, weil es im Interesse der Sache besser ist, wenn ich sie den interessierten Fachkreisen mitteile.

***Trailliella adriatica* nov. spec.**

Am 18. Februar 1915 fand ich im Hafen von Triest auf Exemplaren von *Gelidium capillaceum* 1 bis 2 mm hohe, hell-rosarote Büschelchen, die ich zunächst für eine *Chantransia* hielt. Das mikroskopische Bild zeigte mir aber sofort, daß es sich um etwas ganz anderes handelte. Die Pflanze besteht aus zierlichen, aufrechten oder ganz wenig gebogenen Fäden, die an der Insertionsstelle am Substrat strahlig auseinanderstreben. Diese aufrechten Langtriebe wachsen mit einer Spitzenzelle und tragen seitlich kurze Ästchen, die ungefähr in der Mitte oder etwas gegen die Basis zu schwach verbreitert und gegen die Spitze zu verdünnt sind (vgl. Abb. 1, 2b). Die Verzweigung ist ganz regellos, meist abwechselnd, doch können auch auf zwei aufeinander folgenden Zellgliedern des Langtriebes Seitenzweige entstehen (vgl. Abb. 1).

Die Länge der Zelle ist sehr stark variabel, sie schwankt zwischen 3 und 70 μ . Die Breite beträgt 15 bis 25 μ . Die längeren Zellen sind zylindrisch gebaut, während die Zellglieder mittlerer Länge einen mehr tonnenförmigen Umriß besitzen. Jene Fadenglieder, die unmittelbar unterhalb der Scheitelzelle liegen, sind am niedrigsten und erscheinen im optischen Durchschnitt häufig halbmondförmig gebogen (vgl. Abb. 1).

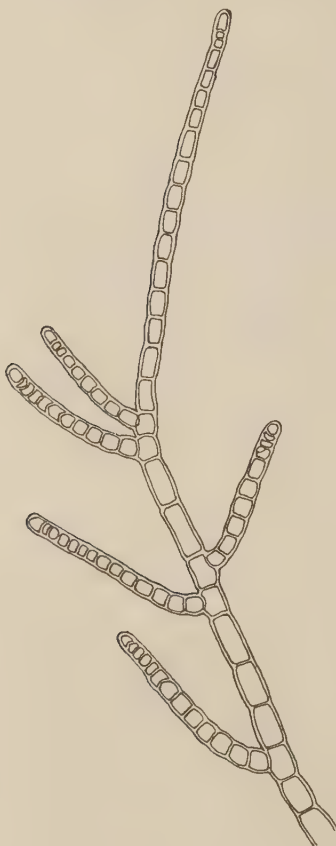
Die Scheitelzelle ist immer groß und deutlich vom übrigen Faden unterschieden. Die an die Fadensegmente angrenzende Grundfläche ist kon-

kav nach innen gebogen. Zum Unterschied von den ausgewachsenen Fadenzellen ist der Inhalt der Scheitelzelle homogen und stark lichtbrechend. Die Chromatophoren lassen sich darin nicht erkennen. Die jungen

Segmentzellen sind mit einem dichten, jedoch körnigen Inhalt erfüllt. Dasselbe Aussehen besitzen die Initialzellen der seitlichen Kurztriebe. In den normalen, ausgewachsenen Zellen von Lang- und Kurztrieben sind sehr zahlreiche, scheibenförmige Chromatophoren von unregelmäßigem Umriß vorhanden. Sie liegen im protoplasmatischen Wandbelag und schließen ziemlich dicht aneinander. Sie sind schwach rosa-rot gefärbt. Pyrenoide konnten nicht festgestellt werden. Der Kern ist in der Einzahl vorhanden. Zwischen den Zellen befinden sich Porentüpfel von ganz einfachem Bau.

Die Verzweigung, namentlich aber die Ausbildung der Seitenzweig-initialen verleihen diesem Organismus ein eigentümliches Aussehen. Die Initialzelle eines Seitenästchens wird durch eine uhrglasförmig gekrümmte Wand am morphologischen Oberende der betreffenden Langtriebzelle angelegt (vgl. Abb. 2 a, c, d). Auf diese Weise wird ein ziemliches Stück der Mutterzelle herausgeschnitten, was zur Folge hat, daß die Mutterzellohlfte im optischen Durchschnitt die Gestalt eines J oder L annimmt. Inzwischen wächst die Seitenzweig-Initialzelle in die Länge, die Kollode des Langtriebes wird vorgewölbt und gleichzeitig wird das Volumen der Mutterzelle ergänzt.

Abb. 1. *Trailliella adriatica*. Habitusbild bei mittlerer Vergrößerung.



Die Eindellung wird infolgedessen immer kleiner, so daß schließlich die Wand der Langtriebzelle, an der der Seitenast ansitzt, nur schwach konkav gebogen erscheint (vgl. Abb. 2 a, d). Die Seitenzweige wachsen ebenfalls mittels einer Spitzenzelle von gleichem Aussehen wie die des Langtriebes. Der einzige Unterschied besteht darin, daß die Segmentierungstätigkeit früher eingestellt wird.

Da, wie früher gesagt wurde, die Seitenzweiginitialen einen körnigen, ungefärbten Inhalt führen, erwecken sie im ersten Augenblick den Eindruck von Sporen; dies um so mehr, als oft mehrere solcher Initialen fast gleichzeitig am Langtrieb angelegt werden und alle ziemlich gleichzeitig in die Länge wachsen. Richtige Fortpflanzungsstadien bekam ich leider nicht zu Gesicht.

Damit ist die Schwierigkeit gegeben, die vorliegende Alge sicher zu benennen. Nachdem ich aber vor einigen Jahren die nordische *Trailliella*

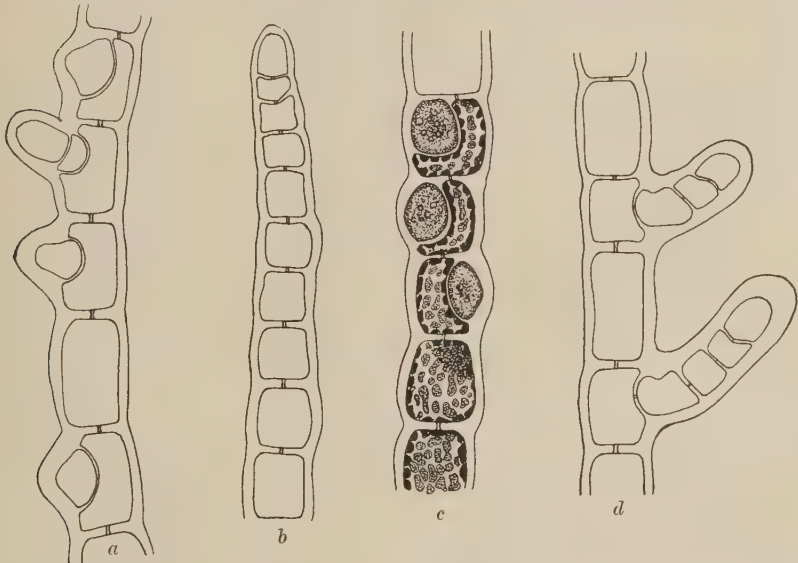


Abb. 2. *Trailliella adriatica*. Entstehung der Seitenäste.

intricata sehr genau studiert habe, glaube ich nicht fehl zu gehen, die hier besprochene Form als einen Vertreter der gleichen Gattung anzusprechen. Der Bau der vegetativen Zellen, die Form und Lagerung der Chromatophoren, die Art und Weise der Astbildung, alles dies weist eine außerordentlich weitgehende Ähnlichkeit mit *Trailliella intricata* auf. Unterschiede bestehen in der Größe und im Wuchs, sowie im gänzlichen Fehlen von „Blasenzellen“. Jedenfalls wüßte ich derzeit nicht, wohin dieser Organismus sonst gestellt werden könnte. Die Fortpflanzung tritt bekanntlich auch bei *Trailliella intricata* äußerst selten auf, und daß nicht alle Ceramiceen Blasenzellen führen, ist ebenfalls bekannt.

Die Gattung *Trailliella* ist bisher für das Mittelmeergebiet unbekannt gewesen. Da zwischen *Trailliella intricata* und der hier besprochenen Form

sicher Artunterschiede bestehen, so will ich sie neu, und zwar nach dem Fundort benennen. Ich lasse hier noch die Diagnose folgen.

***Trailiella adriatica* nov. spec.** Thallus penicillatus, 1 bis 2 mm altus, erectus, filiformis, ecorticatus, lateraliter paullum ramosus; rami articulis brevibus, ad basim longioribus; cellulae uninucleatae, chromatophora plura, rubra, parva, orbiculata, parietalia includentes. Rami e cellulis peculiaribus globosis ad apicem articularum lateraliter pariete obliqua ortis prodeuntes. Articulae ramorum poris junctae.

Species epiphytice in *Gelidio capillaceo* vicens in sinu Tergestino.

***Leptonema neapolitanum* nov. spec.**

Bei dieser Form war ich lange im Zweifel, ob ich sie als neue Art beschreiben sollte. Bekanntlich wurde die Gattung *Leptonema* im Jahre 1888 von REINKE aufgestellt und hat sie dieser ein Jahr darauf im Atlas deutscher Meeresalgen auf Taf. 9 und 10 vorbildlich schön illustriert. In genanntem Atlas führt REINKE nur eine Art an, und zwar *Leptonema fasciculatum*, von der er aber drei Varietäten, nämlich var. *uncinatum*, *majus* und *flagellare*, unterscheidet. Ich habe daher lange überlegt, ob ich die hier zu besprechende Form als eine neue Varietät oder als Art anführen soll. Zwei Gründe brachten mich schließlich dazu, mich für die zweite Alternative zu entscheiden. Der erste ist der, daß ich die Empfindung habe, daß REINKE in der Zusammenziehung zu einer einzigen Art zu weit gegangen ist, denn namentlich die Unterschiede zwischen der var. *majus* und *uncinatum* scheinen mir ausreichend, um eine spezifische Trennung der beiden vorzunehmen. Der zweite Grund ist die geographische Verbreitung. *Leptonema fasciculatum* wurde von REINKE in der Ostsee gefunden und so viel ich weiß, ist es sonst nirgends gesehen worden; ganz sicher gilt das aber vom Mittelmeer, so daß ich mich berechtigt fühle, meine Form als Art von der Ostseeform zu unterscheiden.

Ich fand die in Rede stehende Alge im Februar des Jahres 1928 im Golf von Neapel, und zwar epiphytisch auf *Codium elongatum*. Sie wächst dort zusammen mit ebenfalls epiphytischen Ectocarpen, was wohl erklären dürfte, daß sie bisher übersehen wurde. Da ich in Neapel mit ganz anderen Arbeiten beschäftigt war, so wird die folgende Beschreibung etwas fragmentarisch ausfallen. Die Tatsache als solche aber, daß im Mittelmeer ein Vertreter dieser seltenen Gattung gefunden wurde, scheint mir wert genug, bekanntgegeben zu werden.

Von der Größenordnung dieser Alge gibt Abb. 3 f eine Vorstellung; es handelt sich also um 1 bis 2 mm hohe, halbkugelig ausgebildete Büschelchen, die, zwischen jungen Pflanzen von *Ectocarpus*-Arten verstreut, dem Substrat aufsitzen. Ich möchte noch darauf hinweisen, daß diese epiphytischen Organismen so verteilt sind, daß sie die Stirnfläche der Assimilatoren von *Codium elongatum* freilassen und nur in dem

schmalen Raum zwischen den einzelnen Schläuchen aufritzen. Auch Diatomeen sind in dieser Epiphytengemeinschaft vertreten.

Aus kriechenden Fäden, die eine mehr minder lückenlose Sohle bilden, erheben sich die aufrechten, unverzweigten Langtriebe. Diese sind ziemlich gleichmäßig dick und bloß in der Nähe der Spitze verjüngen

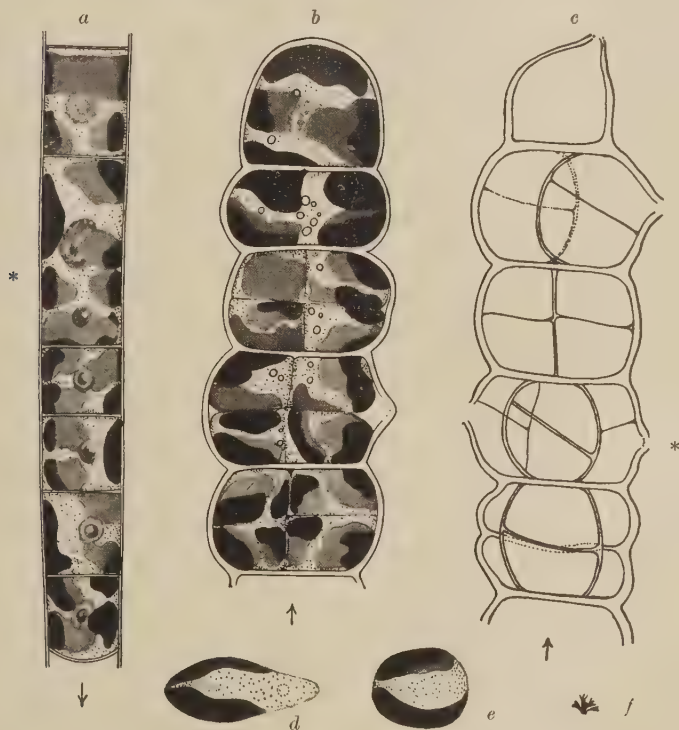


Abb. 3. *Leptonema neapolitanum*. a Vegetativer Faden, unterhalb der Fadenspitze die interkalare Wachstumszone zeigend. b Entstehung der plurilokulären Sporangien. c Entleerte plurilokuläre Sporangien. d, e Schwärmer. f Habitusbild in natürlicher Größe.

sie sich schwach. Unterhalb des Fadenendes liegt auch die interkalare Wachstumszone. In Abb. 3 a ist ein Ausschnitt aus dem apikalen Teil des Fadens dargestellt, aus dem die allmähliche Verjüngung des Fadens wie auch das Teilungszentrum hervorgeht. Durch den Pfeil wird hier wie auch in den folgenden Figuren die Richtung der Spitze angedeutet.

In den Zellen, welche im ausgewachsenen Zustand etwa $1\frac{1}{2}$ - bis 2mal

so lang als breit sind, liegen einige 3 bis 4 plattenförmige Chromatophoren. In der Zelle bei * in Fig. 3 a, die bedeutend länger als normal ist, befinden sich dementsprechend auch mehr (6) Chromatophoren. Es handelt sich in diesem Falle um eine Zelle, die sich vor der Teilung befindet. Die Chromatophoren liegen der Innenfläche der Wand an und sind unregelmäßig, breit gelappt. In der Mitte der Zelle ungefähr liegt eine Ansammlung von stärker lichtbrechenden Körpern; es handelt sich wohl um die bei Phäosporeen übliche Ansammlung von Assimilaten um den Kern herum.

Von Fortpflanzungsorganen sah ich bloß die plurilokulären Sporangien. Diese entstehen im apikalen Teil des Fadens und entstehen durch direkte Umwandlung von Fadengliedern in Sporangialzellen. Diese Umwandlung besteht in einer Teilung des Inhaltes einer jeden Zelle in 4 Tochterzellen. Selten entstehen auch mehr Teilungsprodukte (Abb. 3 c *). In Abb. 3 b sieht man sehr deutlich, wie der Teilungsvorgang beschaffen ist; hier befinden sich die Sporangialzellen eben in Teilung. Die Teilungsebenen liegen hier noch senkrecht aufeinander. Aus den entleerten Sporangien in Abb. 3 c geht aber hervor, daß sekundär die Lage der Teilungsebenen und mithin der Trennungswände eine \pm leichte Verschiebung erfahren kann. Mit allen diesen Vorgängen geht eine Verlängerung der Querachse der einzelnen Sporangialzellen vor sich, was einerseits eine wesentliche Verbreiterung der fertilen Fadenabschnitte und anderseits eine Vorwölbung der einzelnen Sporangialglieder zur Folge hat. Während aber bei *Leptonema fasciculatum* die Vorwölbung der Sporangialzellen einseitig erfolgt, geschieht dies bei unserer Art gleichmäßig nach allen Seiten, so daß die Längsachse des Fadens auch im fertilisierten Abschnitt unverändert bleibt. In jedem der vier Fächer einer Sporangialzelle entsteht nur ein einziger Schwärmer (Abb. 3 d, e); nur aus der apikal gelegenen Sporangialzelle gehen zwei Schwärmer hervor, ohne daß es immer zu einer Scheidewandbildung käme (Abb. 3 c). Die Schwärmer führen zwei seitlich gelegene, plattenförmige Chromatophoren. Die Schwärmer werden durch Öffnungen entlassen, die gewöhnlich in der Einzahl in jeder Sporangialzelle gebildet werden (Abb. 3 c). Es können aber auch zwei Öffnungen entstehen (Abb. 3 c bei *), was jedoch ein seltenerer Fall ist. Diese etwas vorgewölbte Öffnung entsteht beim apikalen Sporangianglied apikal, bei den interkalaren Gliedern seitlich.

Aus all dem gehen einige Unterscheidungsmerkmale hervor, die es nicht so unberechtigt erscheinen lassen, wenn ich diese Form aus Neapel als eine eigene Art auffasse. Die Unterschiede liegen in folgenden Punkten: 1. Die interkalare Teilungszone liegt nicht wie bei *Leptonema fasciculatum* basalwärts, sondern unterhalb der Fadenspitze. 2. Die Sporangialglieder strecken sich zwar auch hier senkrecht zur Längsachse, doch nicht einseitig. 3. Aus jedem Fach eines Sporangialgliedes geht in der Regel nur ein Schwärmer hervor.



Abb. 4.
Blastophysa rhizopus.

Ich nenne daher diese Pflanze nach ihrem ersten Fundort *Leptonema neapolitanum* nov. spec., sehe aber von einer endgültigen Diagnose ab, solange nicht auch die unilokularen Sporangien bekannt sind.

Blastophysa rhizopus Reinke

Ich führe diese Alge hier deshalb an, weil sie für Neapel, wie überhaupt für das Mittelmeergebiet bisher unbekannt ist. Ich fand sie zuerst im August 1928 in Kulturen von *Anadyomene stellata*, und zwar sowohl auf dieser epiphytisch als auch frei an der Wand der Kulturschalen. Da ich von diesem Organismus keine Fortpflanzung sah, so kann ich auch nicht einmal vermutungsweise sagen, ob er vielleicht eine besondere Art vorstellt. Ich glaube jedoch nicht, denn die von mir beobachteten Exemplare (vgl. Abb. 4) stimmen im großen ganzen mit der REINKESCHEN Beschreibung und Abbildung gut überein. Auch ist für *Blastophysa* die starke Variabilität nur zu gut bekannt. Ich beschränke mich daher bloß auf die Konstatierung, daß *Blastophysa* auch im Mittelmeer vorkommt und es wird Sache späterer Untersuchungen sein zu entscheiden, ob die in Neapel gefundene Form dieselbe Art darstellt wie die nordische. Vorderhand ist es meines Erachtens klüger, sie als *Blastophysa rhizopus* zu registrieren.

Das Material, welches ich an den Wänden der Kulturschalen — aber auch an der Oberfläche der Kulturflüssigkeit! — fand, bestand meistens aus mehreren, dicht gedrängten, mehr minder kugeligen bis ovalen Blasen, welche untereinander nur durch ganz kurze Membranschläuche verbunden waren. Daß daneben auch recht lange Schläuche vorkommen, zeigt die Abb. 4. Wenn ich auf einen Unterschied gegenüber der REINKESCHEN Art aufmerksam machen darf, so besteht er darin, daß die Chromatophoren nicht so dicht aneinanderschließen. Sie sind zwar auch vielseitige Scheiben, die im Wandbelag liegen, doch sind die Zwischenräume viel breiter. Doch kann das auch bloß ein Zustand sein, der noch nicht einen spezifischen Unterschied abgibt. Auch bei meinem Material sind die Pyrenoide nur an einzelnen Chromatophoren rundlich und sehr stark lichtbrechend. Außerdem sind in der Zelle mehrere Kerne enthalten.

Literatur

- Batters E. A. L., Some new British Marine Algae. Journ. of. Bot., 34. 1896.
 Funk G., Die Algenvegetation des Golfes von Neapel. Mitt. d. zool. Station Neapel, Ergänzungsband 7, 1927.
 Huber E., Chaetophorées epiphytes et endophytes. Ann. Sci. nat., 7. sér., 16, 1892.
 Kylin H., Algologiska notiser från bohuslänska Kusten. Botan. Notiser, 1922.
 Derselbe, Über die Blasenzellen einiger Florideen und ihre Beziehung zur Abspaltung von Jod. Arkiv f. Botanik, 14, 1915.

Derselbe, Über die Blasenzellen der Florideen. Botan. Notiser, 1927.

Oltmanns F., Morphologie und Biologie der Algen. II. Aufl., 1922.

Printz H., Die Algenvegetation des Trondhjemsfjordes. Norske Videnskaps-Akademi i Oslo, I. Math.-nat. Kl., Nr. 5, 1926.

Derselbe, *Chlorophyceae*. In Engler-Prantl, Natürl. Pflanzenfam., II. Aufl., Bd. 3, 1927.

Reinke J., Einige neue braune und grüne Algen der Kieler Bucht. Ber. d. d. bot. Ges., 6, 1888.

Derselbe, Atlas Deutscher Meeresalgen. 1889.

Schussnig B., Über die Entwicklung und die Funktion der Blasenzellen bei den Florideen. Arch. f. Prot., 58, 1927.

Derselbe, Phykologische Beiträge. Österr. Bot. Zeitschr., 77, 1928.

De Toni G. B., Sylloge Algarum.

Wille N., *Chlorophyceae*, in Engler-Prantl, Natürl. Pflanzenfamilien, I. Aufl., I/2, 1897.

Zur Kenntnis der Samenentwicklung von *Roridula*

Vorläufige Mitteilung

Von

Karl Schnarf (Wien)

Mit 2 Textabbildungen

Roridula ist eine Gattung, deren Stellung im System gänzlich unsicher ist. Von DRUDE (in Nat. Pfl.-Fam., III/2, 1891) wurde sie zu den *Droseraceae* gestellt. DIELS (Pflanzenreich, IV/112, 1906) schließt sie von den *Droseraceae* aus und weist auf Beziehungen zu *Luxemburgia* (*Ochnaceae*) hin. MARLOTH betrachtet sie als Vertreterin einer eigenen, jedenfalls sehr alten Familie, die in die Nähe der *Pittosporaceae* zu stellen sei.

Diese — übrigens nicht vollständigen — Hinweise dürften es rechtfertigen, wenn ich über einige Beobachtungen berichte, die ich leider nur an sehr spärlichem Material machen konnte. Dieses bestand nämlich nur aus sechs Fruchtknoten, die der im Jahre 1914 verstorbene Konservator des Botanischen Institutes der Universität Wien JOSEF BRUNNTHALER in Südafrika gesammelt, mit Flemming fixiert und in Paraffin eingebettet hatte.

Das eingebettete Material war als *Roridula* bezeichnet und zwar kann es nur von *Roridula dentata* stammen. Dafür spricht einerseits der Bau des Fruchtknotens (nur eine Samenanlage in jedem Fache), andererseits der Umstand, daß im botanischen Institute in Wien in Formol konserviertes Material von *Roridula dentata* aufbewahrt wird, das nach der Aufschrift BRUNNTHALER im November 1909 auf dem Watervaalsberg bei Tulbagh im Kapland gesammelt hat.

Querschnitte durch den Fruchtknoten zeigen, daß dieser von oben bis unten aus drei vollkommen geschiedenen Fächern besteht. Im inneren Winkel jedes Faches entspringt eine Samenanlage, die nach ihrer Stellung als apotrop hängend bezeichnet werden muß. Wie die beiden Abbildungen zeigen, zieht der dicke Funikulus über die Mikropyle der Samenanlage hinweg und geht in die dorsale Raphe über, welche von einem Leitstrang durchzogen wird, der in der Chalaza endigt.

Die Samenanlage besitzt nur ein Integument, das in dem in Abb. 1 dargestellten Stadium direkt den Embryosack umschließt. Von

dem Nuzellus ist nur mehr am chalazalen Ende eine kleine Zellgruppe vorhanden, in welcher die Antipoden eingebettet sind. Da mir jüngere Stadien fehlen, kann nur festgestellt werden, daß der Nuzellus von dem heranwachsenden Embryosacke aufgezehrt wird. Ob *Roridula* typisch tenuinzellat ist, d. h. in jungen Stadien einen Nuzellus besitzt, der nur aus der Epidermis besteht, die die primäre Archesporzelle umschließt, erscheint nicht ganz sicher.

Im einzelnen ist zunächst an der Samenanlage die äußere Epidermis des Integumentes bemerkenswert, die aus auffallend großen

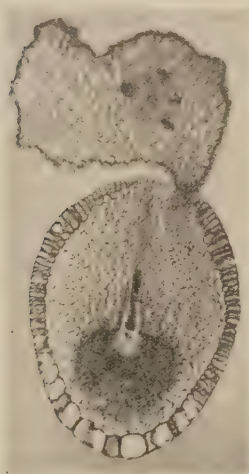


Abb. 1. Unbefruchtete Samenanlage von *Roridula* im Längsschnitt

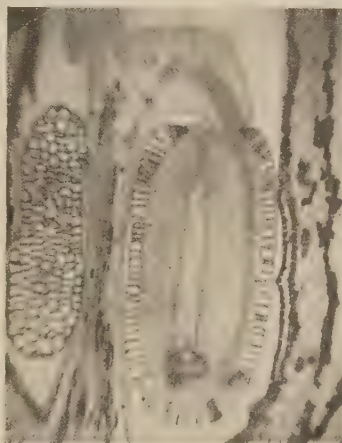


Abb. 2. Samenanlage von *Roridula* einige Zeit nach der Befruchtung

Zellen besteht. Nur in der nächsten Umgebung der Mikropyle werden die Epidermiszellen kleiner. Die Innenepidermis ist als Mantelschicht ausgebildet, deren Zellen in diesem Stadium sehr breit und niedrig, ferner auffallend reich an Zytoplasma erscheinen. Die Innenkutikula, die die Mantelschicht überzieht, hebt sich an günstigen Stellen sehr deutlich als stark lichtbrechende Lamelle ab.

Zwischen der Mantelschicht und der äußeren Epidermis liegen etwa 15 Schichten parenchymatischer Zellen und in der Chalazaregion befindet sich eine mächtige, etwa kugelförmige Masse plasmareicher Zellen, die mit dem die Raphe durchziehenden Leitbündel in Zusammenhang steht.

Der Embryosack (Abb. 1) zeigt in diesem Stadium die gewöhnliche Zusammensetzung. Am Grunde, in den Nuzellusrest eingesenkt, liegen

drei Antipoden und am Mikropylarende der normal aussehende Eiapparat. Auffallend ist nur, daß die zwischen beiden liegende Zelle — die Endospermanlage —, die bereits den großen sekundären Embryosackkern enthält, völlig mit dichtem Inhalt ohne jeden Saft Raum erfüllt ist.

Die anderen Stadien, die mir vorliegen, stammen aus einiger Zeit nach der Befruchtung. Bei günstiger Schnittführung, die hier übrigens leicht zu erreichen ist, können wir in der ganzen Länge der Mikropyle den dünnen Pollenschlauch verfolgen. Die Eizelle hat sich in den von mir beobachteten Stadien noch nicht geteilt, sondern nur in die Länge gestreckt. Dagegen ist der ganze Raum des Embryosackes, der seit der Zeit vor der Befruchtung beträchtlich zugenommen hat, von Endospermzellen erfüllt (Abb. 2). Wie das Endosperm bei *Roridula* entsteht, kann ich infolge des Mangels an maßgebenden Stadien nicht mit Bestimmtheit sagen. Wenn ich zelluläre Entwicklung vermute, so kann ich mich nur darauf berufen, daß in Embryosäcken von ähnlicher Bildung das Endosperm zellulär entsteht, und außerdem auf den Umstand hinweisen, daß fast alle Wände im Endosperm entweder in der Längs- oder in der Querrichtung verlaufen.

Haustorien finden wir nicht, weder in dem in Abb. 2 abgebildeten, noch in einem älteren Stadium, in welchem die Samenanlage fast doppelt so lang ist wie in Abb. 1.

Wir sehen somit: *Roridula dentata* besitzt in jedem Fache des dreifährigen Fruchtknotens eine apotrop hängende Samenanlage mit einem einzigen Integument und einem verschwindenden Nuzellus. Der befruchtungsreife Embryosack grenzt seitlich an die als Mantelschicht ausgebildete innere Epidermis des Integumentes. Das vermutlich zellulär sich entwickelnde Endosperm bildet keine Haustorien aus.

Diese Befunde sind gewiß trotz ihrer Lückenhaftigkeit geeignet, bei der Erörterung der Frage nach der systematischen Stellung von *Roridula* verwertet zu werden. Diese Erörterung unterlasse ich aber vorläufig, da ich Aussicht habe, in einiger Zeit vollständigeres Material dieser Gattung untersuchen zu können.

Besprechungen

Du Rietz, G. E. Vegetationsforschung auf soziations-analytischer Grundlage.

(E. ABDERHALDEN, Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden, Lief. 320: Abt. XI, Teil 5, Heft 2.) Berlin u. Wien (Urban und Schwarzenberg). 1930. Groß-8°. S. 293—480, 10 Abb.

Diese inhaltsreiche Abhandlung ist eine Art Neuauflage der vor 9 Jahren erschienenen Dissertation des Verf.: Zur methodologischen Grundlage der modernen Pflanzensoziologie, Upsala 1921 (siehe das Referat in dieser Zeitschrift, LXX, 1921, S. 304), die nicht nur wesentlich vermehrt, sondern auch verbessert ist, indem er auf Grund weitgehender Benützung der reichen seither erschienenen Literatur, vieler Diskussionen mit Fachgenossen aller Länder und emsigster eigener Feldarbeit in den verschiedensten Gebieten auf einen allgemeineren Standpunkt gelangte, der ihn manche Schroffheiten mildern. Gegensätze ausgleichen und sogar mehrfach eine Vermittlerrolle übernehmen ließ.

Der Inhalt zerfällt in 6 Abschnitte. Der erste, gewissermaßen einleitend, gilt den Einheiten der Pflanzensoziologie. Unter ihnen sind die Phytozönosen scharf von den Synusien auseinander zu halten. Von den ersteren bilden die Soziationen, die den ehemaligen Assoziationen der Upsalaer Schule und RÜBELS Mikroassoziationen entsprechen, die niedrigste Kategorie und dann kommen in aufsteigender Folge: Konsoziationen, Assoziationen (RÜBELS Makroassoziationen), Federationen, Formationen (und Subformationen), die hier nicht als rein physiognomische Gruppen gelten, Panformationen, wozu noch die labilen Phytozönosen kommen. Analog gliedern sich die Synusien in Sozionen, Konsozionen, Assozionen, Federionen, Formionen (und Subformionen), Panformionen und labile Synusien. Dazu kommen noch als Phytozönosenkomplexe die Mosaik- und Zonationskomplexe und die Vegetationsregionen, -stufen und -horizonte. Ein eigenes Kapitel behandelt Isozönosen und Isözien. Der von BRAUN-BLANQUET so hoch eingeschätzte gesellschaftsdiagnostische Wert der Treue wird nur für die höheren Einheiten zugegeben, die Lehre von der Einheitlichkeit der Klimaphytozönosen für bestimmte Vegetationsgebiete abgelehnt. — Je ein kurzer Abschnitt befaßt sich mit der Erfassung, Begrenzung und Benennung der Soziationen — nach Homogenität, Diskontinuitätszonen und Dominanten und mit der qualitativen Aufnahme einer Soziation als Ganzheit durch die Liste der Dominanten und übrigen Arten, womit man sich bei extensiveren Arbeiten, wie auf schnellen Reisen, sogar begnügen muß. — Die genaueren Analysen werden im vierten und fünften Abschnitt mitgeteilt. Der vierte gilt den einzelnen Stichprobenflächen einer Soziation. Dabei handelt es sich um Auswahl und Begrenzung der Flächen, Feststellung der Schichten (Synusien) und Arten, Schätzung und exakte Bestimmung der Merkmale der Vegetation, und zwar Schätzung der relativen Mengenverhältnisse (Dominanzgrad), der absoluten Menge (Deckung und Dichte) und schließlich der Dispersion der Arten und

exakte Bestimmung des Gesamtgewichtes der Sprosse, der Deckung, des Rauminhaltes und endlich der Dichte der Arten — durch Zählung der Individuen und Sprosse, Linien und Streifentaxierung, Quadrat- und Punktmethode — sowie der Dispersion; dazu noch exakte Kartierung, photographische Aufnahmen und Profile der Flächen und Ermittlung und Darstellung der Periodizität. — Der fünfte Abschnitt behandelt die Analyse der Variabilität einer Soziation, wobei folgende Punkte besonders in Betracht kommen: Vergleich der qualitativen Artlisten der verschiedenen Varianten und Fazies; Bestimmung der lokalen, faziellen und generellen Konstanten sowie der Verteilung der Nichtkonstanten und der Konstanz der akzessorischen und akzidentellen Arten; des Minimiareales und der minimalen Dichte der verschiedenen Konstanten; der Verteilung der Arten eines heterogenen und homogenen Konstanzbestimmungsmaterials auf die verschiedenen Frequenzklassen; des mittleren Deckungsgrades und der Variation des Deckungsgrades der verschiedenen Arten sowie der Beziehungen zwischen Artenzahl und Arealgröße; schließlich spezielle Analyse der Soziationsgrenzen. — Der sechste Abschnitt beschäftigt sich mit der Analyse der Verteilung, Sukzession, Standortskorrelationen und Kausalität der Soziationen. Als Mittel zu einer möglichst exakten Analyse der Verteilung und Häufigkeit der verschiedenen Soziationen eines Gebietes kommt nur die Linientaxierungsmethode in Betracht; kartographische und Profilaufnahmen sind im allgemeinen nur für Phytozönosen höheren Ranges anzuwenden. Gegen die Methode des Sukzessionsstudiums lediglich aus dem räumlichen Nebeneinander auf ein zeitliches Nacheinander zu schließen und Schemata zu konstruieren verhält sich Verf. mit Recht zurückhaltend und skeptisch.

F. VIERHAPPER (Wien)

Hueck K. Die Pflanzenwelt der deutschen Heimat und der angrenzenden Gebiete, in Naturaufnahmen dargestellt und beschrieben. Herausgegeben von der Staatlichen Stelle für Naturdenkmalpflege in Preußen. Berlin-Lichterfelde (H. Bermühler), 4^o. Liefg. 2—4 (September 1929): S. 17—40, Textabb. 8—18, 5 Farbtafeln, 13 Tiefdrucktafeln. — Jede Lieferung RM 3,—.

Über die Gesamtanlage dieses schönen Werkes und über die hervorragende Qualität seiner Bilder wurde bereits gesprochen (vgl. Bd. LXXVIII. 1929, S. 350/351). Der Text der neuen Lieferungen enthält den Schluß der Besprechung der Florenelemente und den Beginn der sehr ausführlichen Behandlung der Wälder, und zwar zunächst des Buchenwaldes: Lebenshaushalt; klimatische Bedingungen (Licht, Wärme, Niederschläge); Boden; die Pflanzen im Buchenwald. Von letzterem Kapitel liegt der Anfang der Besprechung der Buche selbst vor. Dem inhaltsreichen und fesselnd geschriebenen Werke ist weiteste Verbreitung zu wünschen.

E. JANCHEN (Wien)

Jávorka S. és Csapody V. A Magyar flóra képekben. *Iconographia florae Hungaricae*. I.—IV. füzet. Budapest, 1929, 1930. Gr.-4^o. 128 schwarze und 9 farbige Tafeln mit Pflanzenbildern, 7 Tafeln mit Vegetationsbildern. — Verkauf für Österreich bei M. Perles (Wien).

Das Bilderwerk, welches mit den vorliegenden vier Lieferungen zu erscheinen beginnt, bildet eine Ergänzung zu JÁVORKAS bekanntem Bestimmungsbuche „Magyar flóra (Flora Hungarica)“. Abgebildet sind fast alle in diesem Buche aufgeführten Pflanzen (in den bisherigen Lieferungen bereits

gegen 1000 Arten), mit Ausnahme von kaum 7% und zwar solchen Pflanzen, deren Vorkommen in Ungarn zweifelhaft erscheint oder deren Abbildung aus sonstigen Gründen sehr entbehrlich ist. Die Schwarzbilder sind nach charakteristischen Strichzeichnungen hergestellt, die Farbbilder (bisher 64) nach Aquarellen sind in Dreifarbendruck wiedergegeben, die Vegetationsaufnahmen (bisher 19, je 2—4 auf einer Tafel) stammen zum Teil von E. VAJDA, L. VAJDA, A. PÉNZES u. a. Die bisherigen Lieferungen umfassen die Pteridophyten, Gymnospermen, Monokotyledonen und einen großen Teil der Monochlamydeen. Als wichtiger Bestimmungsbehelf werden insbesondere die Schwarzbilder nicht nur den Botanikern Ungarns, sondern auch den Botanikern aller benachbarten Länder, insbesondere auch Österreichs, wertvolle Dienste leisten. Das Erscheinen des Werkes ist daher mit Freude zu begrüßen.

E. JANCHEN (Wien)

Kappen H., Die Bodenazidität, nach agrikulturchemischen Gesichtspunkten dargestellt. Berlin (J. Springer), 1929. 8°. VII und 363 S., mit 35 Abb. u. 1 farb. Tafel. RM 36,—, geb. 38,80.

Das ganze Buch ist organisch und pädagogisch aufgebaut und gibt eine schon dringend nötige, auf eigener Forschung und Erfahrung gewachsene zusammenfassende Darstellung über Entstehung, Wesen und Folgen der Ansäuerung des Bodens, die Methoden der Aziditätsmessung und darauf aufbauend für den Praktiker die Bedeutung und Verwendung der Düngemittel für diese Frage und die Möglichkeiten der Bekämpfung der Bodenansäuerung.

Der Stoff ist folgendermaßen gruppiert: Das Wesen der Azidität der Mineralböden, Die Bodenreaktion, Die Bestimmung der Bodenreaktion, Verhalten des sauren Bodens gegen Säuren und Basen, sein Neutralisations- und Pufferungsvermögen, Das Verhalten von sauren Böden gegen die Lösungen von Salzen, Die Absorptionskraft der sauren Böden, Die Bedeutung der Versäuerung für die physikalischen Bodeneigenschaften, Der Einfluß der Reaktion auf die Mikroorganismen des Bodens, Die pflanzenphysiologische Bedeutung der Bodenreaktion, Vorkommen und Verbreitung der Bodenversauerung, Der Einfluß der Düngemittel auf die Bodenazidität, Die Bekämpfung der durch die Bodenazidität hervorgerufenen Schäden durch die Kalkdüngung, Die Verwendung künstlicher Düngemittel auf sauren Böden.

G. KLEIN (Wien)

Kerner Anton (R. v. Marilaun). Das Pflanzenleben der Donauländer. 2. (anastatische) Auflage, mit Ergänzungen und 24 Bildtafeln, neu herausgegeben von F. VIERHAPPER. Innsbruck (Wagner), 1929. 8°. XVI + 452 S. Preis S 16,40, gebunden S 19,68.

Das 1863 erschienene klassische Buch des Forschers und Künstlers ANTON KERNER, in dem seine hervorragende Begabung nach beiden Richtungen so glanzvoll zum Ausdruck kommt, war seit vielen Jahren vergriffen. Schon aus diesem Grunde war es eine glückliche Idee, eine zweite Auflage zu veranstalten, um recht Vielen die Möglichkeit zu geben, zu viel billigerem Preise, als dem antiquarischen der ersten Auflage, ein Werk zu erstehen, das gerade heute, im Zeitalter des Aufschwunges der Pflanzensoziologie, eine ganz besondere Bedeutung besitzt. Diese ist durch die „Ergänzungen“ des Herausgebers in sehr verständnisvoller Weise ins rechte Licht gesetzt worden. VIERHAPPER hat im allgemeinen Teil seiner Ausführungen (S. 349—393), die von den Vegetationsformen, Formationen und Assoziationen handeln,

eine kurze Übersicht über die Geschichte der hier maßgebenden Gesichtspunkte und der im Laufe der Zeit aufgestellten Systeme gegeben, auch die in den letzten Jahren aufgetauchten und nur zum Teil bereinigten Meinungsverschiedenheiten erörtert. Diese Ausführungen, an sich schon sehr verdienstlich und ersprießlich für jeden, der etwa eine erste Orientierung gewinnen will, sind im vorliegenden Fall besonders wichtig, da sie in so vielen pflanzengeographisch wichtigen Fragen, wie dem System der Vegetationsformen, der Schilderung der Pflanzengesellschaften selbst, ihrer Entwicklung und Aufeinanderfolge, deutlich die Rolle KERNERS als eines „Vaters“ der Pflanzensoziologie hervortreten lassen. — Im speziellen Teil der „Ergänzungen“ werden u. a. folgende Fragen eingehender erörtert: ob die Waldlosigkeit des zentralen Teiles der großen ungarischen Tiefebene klimatisch, edaphisch oder durch den Menschen bedingt ist, und welchen Anteil diese Faktoren am heutigen Zustande haben (S. 393—401); Assoziationen der Natriumsalz-Böden (S. 404—407); Indigenat der *Nymphaea thermalis* (S. 409f.); Verbände immergrüner Ericaceen als Abschluß-Formationen (S. 427—430). — Den Schluß der Ergänzungen bildet eine Liste der von KERNER gebrauchten Pflanzennamen, die heute als veraltet gelten können und die hier auf die in den modernen Landesfloren von FRITSCH und JÁVORKA verwendeten Namen zurückgeführt werden. Dann folgt ein Verzeichnis der für die „Ergänzungen“ benützten Literatur.

Ein willkommener Schmuck des Buches sind 24 Bildtafeln, deren erste KERNERS wohlgetroffenes Porträt bringt; die übrigen zeigen teils die Landschaft der Gebiete, deren Vegetation KERNER geschildert hat, teils Einzeldarstellungen ihrer Pflanzenwelt.

Es ist bisher nur von dem neuen Gewande gesprochen worden, in dem das „Pflanzenleben der Donauländer“ nach 66 Jahren wieder erscheint. Über das Werk selbst ein Wort zu sagen, ist natürlich überflüssig. Herausgeber und Verlag haben weder am Inhalt noch an der Form (es ist ja eine anastatische Neuauflage) das Geringste geändert, und so dem klassischen Buch die verdiente Ehre erwiesen.

A. GINZBERGER (Wien)

Möller A. Der Waldbau. Vorlesungen für Hochschul-Studenten. I. Band: Naturwissenschaftliche Grundlagen des Waldbaues. Nach dem Tode A. Möller's bearbeitet und herausgegeben von H. MÖLLER und E. HAUSENDORFF. Berlin (J. Springer), 1929. Gr.-8°. 560 S., 60 Textabb., 21 Tafeln.

Das Buch ist aus Vorlesungen hervorgegangen, die der Verfasser viele Jahre hindurch an der Forstakademie Eberswalde gehalten hat. Der erste Teil (Vorlesung 1—17, Seite 1—316, Abb. 1—51, Taf. I—XI) behandelt die „Bedeutung der Pilze für das Leben des Waldes“, der zweite Teil (Vorlesung 18—31, Seite 317—547, Abb. 52—60, Taf. XII—XXI) die „Pflanzenphysiologischen Grundlagen des Waldbaues“. MÖLLER, der ebenso wohl als Botaniker, speziell als Mykologe, wie auch als Forstmann große Bedeutung hatte und sich auf beiden Gebieten als Forscher hervorragend betätigte, war der berufene Mann, ein solches Werk zu schaffen. Es ist den Herausgebern sehr zu danken, daß sie die nachgelassenen Manuskripte MÖLLERS zur Drucklegung bearbeitet und dadurch der Mit- und Nachwelt ein wertvolles Buch geschenkt haben. Ein zweiter Band, welcher den angewandten Teil des Waldbaues enthalten soll, befindet sich in Vorbereitung.

E. JANCHEN (Wien)

Prjanischnikow D. N. Spezieller Pflanzenbau. Der Anbau der landwirtschaftlichen Kulturpflanzen. Nach der siebenten russischen Auflage herausgegeben von E. TAMM. Berlin (J. Springer), 1930. Gr. 8°. 719 S., 4 Textabb., 15 Karten. RM 57,—, gebunden RM 59,80.

Die wissenschaftliche Erforschung der Kulturpflanzen und ihrer Lebensbedingungen hat gerade in letzter Zeit in Rußland sehr große Fortschritte gemacht. Außer an Forschungsinstituten und Lehrkanzeln werden an nahezu 200 Versuchsstationen landwirtschaftlich-botanische Studien betrieben. Durch die vorliegende Übersetzung von PRJANISCHNIKOWS umfangreichem Handbuch werden die Verhältnisse und Erfahrungen des russischen Pflanzenbaues auch dem deutschen Landwirt und Botaniker erschlossen. Nach Einleitungskapiteln über die Ernährungsansprüche der Kulturpflanzen und die biologischen Grundlagen der Fruchtfolge behandelt Verf. der Reihe nach die Knollenfrüchte, Wurzelfrüchte, Getreidearten, Samenleguminosen, Ölpflanzen, Gewürzpflanzen (mit ätherischen Ölen in den Samen), Faserpflanzen, Futterpflanzen, Tabak, Hopfen, Farbpflanzen. Von den Faserpflanzen sei der Kendyr (*Apocynum sibiricum*) aus Transkaspien und Turkestan erwähnt. Bei den einzelnen Pflanzen bespricht Verf. die Herkunft, die Morphologie, das Verhalten zu Klima und Boden, die Stellung in der Fruchtfolge, die Bodenbearbeitung, Düngung, Saat, Pflege, Ernte, Verwertung und wirtschaftliche Bedeutung, häufig auch Sorten- und Züchtungsfragen und Krankheiten.

E. JANCHEN (Wien)

Tschermak L. Die Verbreitung der Rotbuche in Österreich. Ein Beitrag zur Biologie und zum Waldbau der Buche. (Mitteilungen aus dem forstlichen Versuchswesen Österreichs. 41. Heft.) Wien 1929. 4°. 121 S., mit 3 Tafeln und 1 Karte.

Eine für den Forstwirt und Pflanzengeographen gleich wichtige Abhandlung. Eine umfassende Feststellung der horizontalen und vertikalen Verbreitung des Baumes in Österreich unter möglichst eingehender Erwägung seiner Abhängigkeit von den ökologischen Faktoren, wie sie durch Klima, Boden, Exposition usw. gegeben sind, führte Verf. zu der Überzeugung, daß in erster Linie das Klima und erst in zweiter der Boden als die Verbreitung in großen Zügen bedingende Momente in Betracht kommen. Er schließt sich der schon vor ihm von anderen Forschern geäußerten Annahme an, daß das Zurücktreten bzw. Fehlen der Buche im zentralen Teile der Alpen und ihr reichliches Auftreten in den Randketten nicht durch die Verschiedenheiten dieser Gebiete im Kalkgehalte, sondern im Klimacharakter zu erklären sei, indem die Buche als Baum eines mittleren Klimas jenen als zu kontinental meidet, in diesen dagegen, weil sie mehr ozeanisch sind, sich wohl fühlt. Als beweisend für die Richtigkeit dieser Ansicht gilt ihm namentlich der von ihm selbst festgestellte Umstand, daß der Baum im Inneren der Zentralkette, wie im Lungau, auch auf Kalk fehlt, während er dort, wo diese an den Rand des Gebirges rückt, wie in der Oststeiermark, auch auf kalkarmem Urgestein prächtig gedeiht. Die Rotbuche ist keine obligatorische Kalkpflanze, verhält sich vielmehr unter günstigem Klima \pm neutral und zieht sich nur unter zu kühlem gänzlich auf den warmen, trockenen Kalk zurück, während sie sich mit großer Trockenheit und Wärme besser auf frischer, bindiger Flyschunterlage abfindet. Alle größeren Buchenvorkommnisse in Österreich, die Altholz auf größerer Fläche umschließen, sind als natürlich anzusehen. Urwaldreste sind selten, künstlich aufgeforstete Bestände nicht häufig.

Sein optimales Gedeihen, was Bestandesbonität und Güte des Wachstums anlangt, findet der Baum in einem Höhengürtel, der im nördlichen Teil Österreichs von 300 bis 800 m, im südlichen um 200 m höher nach aufwärts reicht, und nur in diesem kommt er als Lieferant von Nutzholz in Betracht. Sein höchstes Vorkommen liegt in Vorarlberg in 1690 m (als Strauch), sein tiefstes bei Greifenstein im Wienerwalde in 170 m Meereshöhe. Ob der geographischen Bedingtheit des Waldbaues ergibt sich für den Forstwirt die Forderung nach enger Zusammenarbeit mit dem Pflanzengeographen, wie sie ja in letzter Zeit auch für den Landwirt erhoben wurde.

Die Tafeln bringen photographische Bilder der Buche in verschiedenen Bestandesbonitäten und Wuchsformen, die Karte veranschaulicht in klarer Weise ihre Verbreitung in Österreich. F. VIERHAPPER (Wien).

Turrill W. B. *The plant-life of the Balkan Peninsula.* A phytogeographical study. Oxford (Clarendon Press), 1929. Gr. 8°. 482 S., mit zahlreichen Abbildungen und Karten.

Dem Buche ist vorgesetzt eine Vorrede A. J. TANSLEYS, aus der ersichtlich ist, daß TURRILLS Werk als erstes einer Reihe von Büchern gedacht ist, die unter dem Sammeltitle „Oxford memoirs on plant geography“ ein Gegenstück zu ENGLER und DRUDE, „Die Vegetation der Erde“, bilden werden. Diese Reihe wird mit TURRILLS Arbeit vielverheißend eröffnet. Die Inhaltsübersicht möge mit der Anlage des Werkes vertraut machen. I. Grenzen, geographische Einteilung und physikalische Geographie des Gebietes (S. 1 bis 18); II. Geologie und Boden (S. 19 bis 39); III. Klima (S. 40 bis 76); IV. Lebensdauer und Lebensformen der Balkanpflanzen (S. 77 bis 98); V. Phänologie (99 bis 103); VI. Klassifikation der Standorte (S. 104 bis 110); VII. Die Höhenstufen (S. 111 bis 117); VIII. Die Pflanzengesellschaften (S. 118 bis 172); IX. Sukzession der Pflanzengesellschaften (S. 173 bis 187); X. Der Einfluß des Menschen auf Flora und Vegetation (S. 188 bis 239); XI. Kulturpflanzen (S. 240 bis 246); XII. Floristische und pflanzengeographische Angaben über die einzelnen Phanerogamenfamilien (S. 247 bis 305); XIII. Pflanzenverbreitung und Wanderungen der Tiere (S. 306 bis 309); XIV. Die Verteilung der Flora und Vegetation innerhalb der Balkanhalbinsel (S. 310 bis 352); XV. Die floristische und pflanzengeographische Verteilung der Balkanpflanzen außerhalb der Halbinsel (S. 353 bis 426); XVI. Endemismen und Reliktarten und die Hypothese „Age and Area“ von Dr. WILLIS (S. 427 bis 472); XVII. Zusammenfassung (S. 473 bis 482).

TURRILL hat bereits wiederholt systematische Arbeiten über einzelne Spezies der Balkanflora veröffentlicht und sich gründlich in die Flora des Gebietes eingearbeitet. Wenn er es nun unternimmt, auf Grund dieser Kenntnisse und eines langjährigen Aufenthaltes im Gebiete die Vegetation des Landes zu schildern, so sind alle Vorbedingungen zum Gelingen dieser großen Aufgabe gegeben. Eine sehr große Menge von Einzelbeobachtungen ist in knappster Form im Kapitel XII verarbeitet, das für die einzelnen Phanerogamenfamilien die Zahl der Genera und Spezies, die Lebensformen, Standorte, Höhenstufen, Blütezeit, Verteilung im Gebiete und außerhalb desselben angibt. Kapitel VIII, IX und X behandeln die Fragen der Pflanzensoziologie in erschöpfender Weise. Die Analyse der Beziehungen der Balkanflora zu den benachbarten Ländern Europas, ferner zu Asien und Afrika enthält die wertvollsten Tatsachen des Buches. Unter der Gesamtzahl von 6530 Arten ist die Zahl der Endemiten erstaunlich groß: 1754 Arten, von denen 901 Arten nur in einem einzelnen Bezirk der Halbinsel vorkommen.

Von den graphischen Darstellungen seien erwähnt: Die Hydrothermfiguren (Janina, Athen, Üsküb, Sofia, Belgrad, Larissa), die eine rasche Übersicht des mannigfach abgestuften Klimas des Landes gestatten; Windkarte; Regenkarte; Baum- und Waldregionen im Mediterrangebiet und im mitteleuropäischen Gebiete; graphische Darstellungen der Sukzession der Pflanzenvereine; Einteilung der Halbinsel in pflanzengeographische Bezirke; Zahl der „alpinen“ Arten in den einzelnen Bezirken (S. 408); Zahl der Endemismen in den einzelnen Bezirken (S. 435 u. 437); Karte der wichtigsten Einwanderungswege (S. 426). Dazu kommen zahlreiche Tafeln mit Vegetationsbildern und Einzelpflanzen.

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß TURRILLs Buch den gegenwärtigen Stand unserer Kenntnisse von Flora und Vegetation der Balkanhalbinsel in glücklicher Weise zusammenfaßt und ein unentbehrliches Hilfsbuch für alle weiteren botanischen Forschungen dieses Landes bildet — kurz, ein standard work ist.

R. SCHARFETTER (Graz)

Zumpfe H., Obersteirische Moore. Mit besonderer Berücksichtigung des Hechtenseegebietes. (Vorarbeiten zu einer pflanzengeographischen Karte Österreichs, XIII.) (Abhandlungen der Zoologisch-Botanischen Gesellschaft in Wien, Bd. XV, Heft 2.) Wien 1929. Gr. 8°. 100 Seiten, 1 Karte und 5 Tafeln.

Die vom Verf. behandelten Moore gehören fast alle dem Mariazeller Gerichtsbezirke an. Nach einleitenden Kapiteln über die geographischen und geologischen Verhältnisse des Gebietes, über die Wirkungen der Eiszeit und über das heutige Klima beschreibt er die Moorgesellschaften. Es sind 19 Assoziationen im engen Umfange der Upsalaer Schule, die nach dem Vorbilde DU RIERZ' mit gleich großen quadratischen Probestflächen untersucht wurden. In den Diagnosen der Assoziationen wird für jede Art ihre Zugehörigkeit zu Schicht und Grundform, sowie Deckungs- und Konstanzgrad ersichtlich gemacht. Als nicht streng zum Moore gehörige, sondern es nur umsäumende Gesellschaften erfahren Voralpennadelwald, *Nardus*-Heide und Voralpenwiese eine minder eingehende Schilderung. In der Beschreibung der einzelnen Moore nehmen die um den Hechtensee den breitesten Raum ein.

Zum Schlusse folgt ein Blick auf die Entwicklungsgeschichte der obersteirischen Moorbildungen. Sie sind durch Verlandung von Flußgebieten oder stehender Gewässer entstanden, und zwar, wie ihre Profile zeigen, durch Sukzession von Schilf- und Seggensümpfen über Bruchwald zu Sphagneten. Am stärksten nahmen die Sphagnen in der atlantischen Zeit überhand; später erfuhren sie durch das trockenwarme Klima der subborealen Periode zugunsten der Heide eine Unterbrechung in ihrer Weiterentwicklung. Durch Pollenuntersuchungen gelangte Verf. zur Annahme der Aufeinanderfolge einer Föhren-, Föhren-Fichten-, Eichenmischwald-, Buchen-Tannen- und Fichtenperiode.

Die Abhandlung ist durch eine tachymetrisch aufgenommene Karte des Mooregebietes um den Hechtensee, durch 10 photographische Moorbilder, durch zwei Pollendiagramme und ein Sukzessionsschema sehr gut illustriert.

F. VIERHAPPER (Wien)

Akademien, Botanische Gesellschaften, Vereine, Kongresse usw.

Fünfter Internationaler Botanischer Kongreß

Aus dem vorläufigen Programm für den V. Internationalen Botanischen Kongreß, welcher in der Zeit vom 16. bis 23. August 1930 in Cambridge (England) stattfinden wird, sei folgendes entnommen:

Präsident des Kongresses ist Prof. A. C. SEWARD, Botany School, Cambridge, England. Die 28 Vizepräsidenten gehören den verschiedensten Ländern an. Schatzmeister des Kongresses ist Dr. A. B. RENDLE, British Museum (Natural History), London, S. W. 7. Sekretäre sind die Herren F. T. BROOKS, Botany School, Cambridge, England, und Dr. T. F. CHIPP, Royal Botanic Gardens, Kew, England.

Wer Teilnehmer des Kongresses werden will, hat einen Beitrag von £ 1,— zu leisten. Diese Beiträge werden bis 1. April 1930 an den vorgenannten Schatzmeister erbeten. Die Anmeldungen für Unterkünfte und für die Teilnahme an bestimmten Exkursionen sind an den Hon. Secretary, Fifth International Botanical Conference, Botany School, Cambridge, England, sobald wie möglich, jedenfalls vor dem 1. Juli, zu richten.

Als Kongreßsprachen sind Englisch, Französisch und Deutsch zugelassen. Alle auf die Sektionsprogramme bezüglichen Mitteilungen sind an den Recorder (Registrar) der betreffenden Sektionen zu richten. Nachstehend die Übersicht der Sektionen und ihrer bisher angekündigten Verhandlungsgegenstände:

B. Bakteriologie. — Präsident: Prof. R. E. BUCHANAN (Ames, Iowa, U. S. A.). — Recorder: E. G. D. MURRAY, Department of Pathology, Cambridge, England. — Verhandlungsgegenstände: Kennzeichen zur Unterscheidung der Bakterien; Oxydations- und Reduktionsvorgänge in Beziehung zum Bakterienwachstum; Klassifikation und Unterscheidung der pflanzlichen Virus-Arten; Lebenskreislauf der Bakterien.

E. Pflanzengeographie und Ökologie. — Präsident: Prof. H. C. COWLES (Chicago). — Recorder: Prof. A. G. TANSLEY, Department of Botany, Botanic Garden, Oxford, England. — Verhandlungsgegenstände: Postglaziale Veränderungen der Vegetation in Nordwest-Europa in Beziehung zu solchen im übrigen Europa; Nomenklatur der Vegetation; Geographische Verbreitung und ihre Beziehung zum Artbegriff; Kartographie der Arten und der Vegetation; Die Buchenwälder von Europa; Aufstellung von Richtlinien für die Beschreibung einer Pflanzengesellschaft. — Vor, während und nach dem Kongreß werden mehrere Exkursionen veranstaltet.

G. Genetik und Zytologie. — Präsident: Prof. O. ROSENBERG (Stockholm). — Recorder: Prof. R. R. GATES, King's College, Strand, London, W. C. 2. — Verhandlungsgegenstände: Chromosomenmorphologie; Einfluß des Zytoplasmas; Mutationen; Selektive Befruchtung und Pollensterilität; Polyploidie; Artbegriff; Chimären; X- und Y-gebundene Vererbung bei

Pflanzen; Systematische Karyologie der Gräser; Zytologie der Gattung *Papaver*.

M. Morphologie (einschließlich Anatomie). — Präsident: Prof. J. C. SCHOUTE (Groningen). — Recorder: Prof. F. E. FRITSCH, Danesmount, Tower Hill, Dorking, Surrey, England. — Verhandlungsgegenstände: Phytomische Theorien über den vegetativen Aufbau der Gefäßpflanzen; Chimären (gemeinsam mit Sektion G); Xeromorphie; Blütenbau mit besonderer Berücksichtigung des Gynöceums; Ökologie und Biologie der Blüte; Kernphasen und Generationswechsel bei Algen; Struktur der Zellmembran; Meristeme; Kausale Anatomie.

My. Mykologie und Phytopathologie. — Präsident: Prof. L. R. JONES (Madison, Wisconsin, U. S. A.). — Recorder: Dr. E. J. BUTLER, Imperial Bureau of Mycology, 17 Kew Green, Kew, Surrey, England. — Verhandlungsgegenstände: Wirkung der Umgebung auf Krankheiten; Bedeutung der Heterothallie und Kreuzung bei Pilzen; Unterscheidung und Klassifikation von pflanzlichen Virus-Arten (gemeinsam mit Sektion B); Wirkung des Schwefels als Pilzgift; Aussäung der Getreideroste. — Eine mykologische Exkursion ist in Aussicht genommen.

P. Pflanzenphysiologie. — Präsident: Dr. F. F. BLACKMAN (Cambridge). — Recorder: Prof. W. STILES, Department of Botany, The University, Edgbaston, Birmingham, England. — Verhandlungsgegenstände: Anwendung von Mikromethoden auf die Untersuchung der lebenden Zelle; Wachstumserscheinungen; Beförderung von Hormonen und Metaboliten in der Pflanze.

PB. Paläobotanik. — Präsident: Dr. D. H. SCOTT (Basingstoke, England). — Recorder: Dr. H. HAMSHAW THOMAS, Botany School, Cambridge, England. — Verhandlungsgegenstände: Vorzeit und frühe Entwicklung der Angiospermen; Beziehung der spät-paläozoischen Floren zu den früh-mesozoischen Floren; Stellung der Pteridospermen im Pflanzenreich und ihre Beziehung zu Farnen; Wert der Karbon- und Perm-Pflanzen als Leitfossilien; Postglaziale Veränderungen der Vegetation in Nordwest-Europa in Beziehung zu solchen im übrigen Europa (gemeinsam mit Sektion E); Die älteste bekannte terrestrische Vegetation, ihre bemerkenswerten Gestalten und das Zustandekommen einer Landflora. — Auch Exkursionen sind in Aussicht genommen.

T. Systematik (Taxonomie) und Nomenklatur. — Präsident: Prof. L. DIELS (Berlin-Dahlem). — Recorder: Dr. A. W. HILL, Royal Botanic Gardens, Kew, Surrey, England. — Verhandlungsgegenstände: Flora von China; Artbegriff (gemeinsam mit Sektion G); Geographische Verbreitung und ihre Beziehung zum Artbegriff (gemeinsam mit Sektion E); Methoden zur Förderung des Fortschrittes der Systematik.

Die Untersektion für Nomenklatur wird die internationalen Nomenklaturregeln beraten und ihre Beschlüsse der Sektion für Systematik und Nomenklatur zur Weiterleitung an den Gesamtkongreß vorlegen.

Für die Woche nach Schluß des Kongresses sind verschiedene Exkursionen in Aussicht genommen.

Vom 3. bis 10. September 1930 findet in Bristol die Jahresversammlung der „British Association for the advancement of sciences“ unter Vorsitz von Prof. Dr. F. O. BOWER (Sektion Botanik unter Vorsitz von Dr. A. W. HILL) statt. Vom 15. bis 20. September findet in Whitby (Yorkshire) die jährliche Hauptversammlung der „British Mycological Society“ unter Vorsitz von Prof. Sir ROWLAND BIFFEN statt. Zu beiden Veranstaltungen sind die Teilnehmer des Internationalen Botanischen Kongresses eingeladen.

Botaniker-Tagung in Erfurt

Die diesjährlge gemeinsame Tagung der Deutschen Botanischen Gesellschaft, der Vereinigung für angewandte Botanik und der Freien Vereinigung für Pflanzengeographie und systematische Botanik findet unmittelbar nach Pfingsten, nämlich von Dienstag, dem 10. Juni, bis Sonntag, den 15. Juni, in Erfurt statt. Die Versammlungen und Vorträge beschränken sich auf 11. bis 13. Juni. Am 10. Juni finden Besichtigungen von Erfurter Gärtnereien und am 14. und 15. Juni größere Exkursionen statt.

Fünfter Internationaler Limnologenkongreß

Die fünfte Mitgliederversammlung der Internationalen Vereinigung für theoretische und angewandte Limnologie findet vom 24. bis 31. August 1930 in Budapest statt. Für die letzten drei Tage sind Exkursionen zu den Fischteichen der Puszta Hortobágy bei Debrecen, an den Balaton-See und in die Umgebung von Budapest geplant. Anmeldungen und Auskünfte beim Sekretariat des Vorbereitungsausschusses: Haléltani Állomás, Budapest, II., Herman Ottó-út 15.

Naturforscher-Versammlung in Königsberg

Die 91. Versammlung der Gesellschaft Deutscher Naturforscher und Ärzte findet in der Zeit vom 7. bis 10. September 1930 in Königsberg statt.

Botanische Sammlungen, Museen, Institute usw.

Neuere Exsikkatenwerke

DES ABBAYES, H., *Lichenes Armorici*. Fasc. I et II (Nr. 1—40). Briegensi, 1929.

VERDOORN F. *Archegoniatae exsiccatae*. — Dieses Exsikkatenwerk soll seltene und kritische Arten von Lebermoosen, Laubmoosen und Farnpflanzen, hauptsächlich aus Tropenländern, z. T. auch aus Europa enthalten und in je 50 Nummern umfassenden Serien, deren jede in sich abgeschlossen ist, ausgegeben werden. Herausgeber: Fr. Verdoorn, Utrecht (Holland), Begynckade 10.

Personalmeldungen

Hofrat Dozent Dr. GUSTAV KÖCK, bisher Laboratoriumsvorstand der Bundesanstalt für Pflanzenschutz in Wien, wurde zum ordentlichen Professor der Phytopathologie an der Hochschule für Bodenkultur in Wien ernannt.

Dozent Dr. ARPÁD VON PAÁL wurde zum ordentlichen Professor der allgemeinen Botanik an der Universität Budapest ernannt.

Dozent Dr. HELMUT GAMS wurde zum Assistenten am Botanischen Garten und Institut der Universität Innsbruck bestellt.

Hofrat Prof. Dr. RICHARD WETTSTEIN (Wien) und Prof. Dr. FRITZ VON WETTSTEIN (Göttingen) sind von ihrer Forschungsreise nach Südwest-, Süd- und Ost-Afrika Anfang Februar 1930 nach Europa zurückgekehrt.

Die Botaniker Prof. Dr. OTTO PORSCH (Wien) und Dr. GEORG CUFODONTIS (Wien) haben in Begleitung einiger Zoologen eine Forschungsreise nach Costarica angetreten. Das von Prof. PORSCH verfolgte Hauptziel der Reise ist das Studium der Vogelblumen und ihrer Bestäuber.

Professor MICHAEL HELLWEGE (Brixen) ist am 28. März 1930 im Alter von 65 Jahren gestorben.

Prof. Dr. R. P. MAX FLEISCHER (Haag, Holland) ist am 3. April 1930 in Menton-Garavan im 68. Lebensjahre gestorben.

Verlag von Julius Springer in Wien I

Symbolae sinicae

Botanische Ergebnisse der Expedition der Akademie der Wissenschaften
in Wien nach Südwest-China 1914/1918

Unter Mitarbeit von

Viktor F. Brotherus, Heinrich Handel-Mazzetti, Theodor Herzog, Karl Keissler,
Heinrich Lohwag, William E. Nicholson, Siegfried Stockmayer, Frans Verdoorn,
Alexander Zahlbruckner und anderen Fachmännern

Herausgegeben von

Heinrich Handel-Mazzetti

In sieben Teilen. Mit 30 Tafeln

Erschienen sind:

IV. Teil: **Musci**

Von Viktor F. Brotherus

Mit 5 Tafeln, 152 Seiten. 1929. RM 28,80

VI. Teil: **Pteridophyta**

Von Heinrich Handel-Mazzetti

Mit 2 Tafeln, 55 Seiten. 1929. RM 10,—

VII. Teil: **Anthophyta**

Von Heinrich Handel-Mazzetti

1. Lieferung. Mit 3 Textabbildungen und 4 Tafeln. 209 Seiten. 1929. RM 36,—

Der 7. Teil umfaßt etwa 72 Bogen und erscheint in etwa 5 Lieferungen

Im Juni 1930 erscheint:

Teil V: **Hepaticae**. Von William E. Nicholson, Lewes, Frans
Verdoorn, Utrecht, und Theodor Herzog, Jena.

In Vorbereitung befinden sich:

Teil I: **Algae**. Von Siegfried Stockmayer, Wien. — Teil II: **Fungi**.
Von Heinrich Lohwag, Wien, und Karl Keissler, Wien. — Teil III:
Lichenes. Von Alexander Zahlbruckner, Wien.

Die Abnahme eines Teiles verpflichtet zur Abnahme des Gesamtwerkes.

Verlag von Julius Springer / Berlin

Die Bodenazidität. Nach agrikulturchemischen Gesichtspunkten dargestellt
von Professor Dr. H. Kappen, Direktor des Instituts für Chemie an der
Landwirtschaftlichen Hochschule Bonn-Poppelsdorf. Mit 35 Abb. und
1 farbigen Tafel. VII, 363 Seiten. 1929. RM 36.—; gebunden RM 38.80

Inhaltsübersicht:

Das Wesen der Azidität der Mineralböden. Die Bodenreaktion. Die Bestimmung der Bodenreaktion. Verhalten des sauren Bodens gegen Säuren und Basen, sein Neutralisations- oder Pufferungsvermögen. Das Verhalten saurer Böden gegen die Lösung von Salzen. I. Das Verhalten hydrolytisch spaltbarer Salze zum sauren Boden: Die hydrolytische Azidität. II. Die Austauschazidität. III. Die Neutralsalzzersetzung durch Humusstoffe. Die aktive Azidität. Die Absorptionskraft der sauren Böden. Die Bedeutung der Versauerung für die physikalischen Bodeneigenschaften. Der Einfluß der Reaktion auf die Mikroorganismen des Bodens. Die pflanzenphysiologische Bedeutung der Bodenreaktion. Vorkommen und Verbreitung der Bodenversauerung. Der Einfluß der Düngemittel auf die Bodenazidität. Die Bekämpfung der von der Bodenazidität hervorgerufenen Schäden durch die Kalkdüngung. Die Verwendung künstlicher Düngemittel auf sauren Böden. Namenverzeichnis. Sachverzeichnis.

Handbuch der Bodenlehre

Bearbeitet von zahlreichen Fachgelehrten

Herausgegeben von

Dr. E. Blanck

o. ö. Professor und Direktor des Agrikulturchemischen und
Bodenkundlichen Instituts der Universität Göttingen

*Das Werk wird 10 Bände umfassen, die voraussichtlich im Jahre 1930
abgeschlossen vorliegen werden. Jeder Band ist einzeln käuflich*

Der erste Teil des „Handbuches der Bodenlehre“ behandelt die allgemeine oder wissenschaftliche Bodenlehre und umfaßt die Bände I—VII. Die Bände VIII—X beschäftigen sich mit der angewandten oder speziellen Bodenkunde (oder Technologie des Bodens)

Erster Band:

Die naturwissenschaftlichen Grundlagen der Lehre von der Entstehung des Bodens

Bearbeitet von E. Blanck, H. Fesefeldt, F. Giesecke, G. Hager, F. Heide, W. Meigen, S. Passarge, H. Philipp, J. Rehorst, L. Rüger
Mit 29 Abbildungen. VIII, 335 Seiten. 1929. RM 27,—; gebunden RM 29,60

Zweiter Band:

Die Verwitterungslehre und ihre klimatologischen Grundlagen

Bearbeitet von E. Blanck, K. Knoch, K. Rehorst, G. Schellenberg, J. Schubert, E. Wasmund

Mit 50 Abbildungen. VI, 314 Seiten. 1929. RM 29,60; gebunden RM 32,—

Dritter Band:

Die Lehre von der Verteilung der Bodenarten an der Erdoberfläche, regionale und zonale Bodenlehre

Bearbeitet von E. Blanck, F. Giesecke, H. Harrassowitz, H. Jenny, G. Linck, W. Meinardus, H. Mortensen, A. v. 'Sigmond, H. Stremme

Mit 61 Abbildungen und 3 Tafeln. 550 Seiten. RM 54,—; gebunden RM 57,—

In Vorbereitung befinden sich:

Vierter Band: Aklimatische Bodenbildung, die Bodenformen Deutschlands und die fossilen Verwitterungsrinden. — Fünfter Band: Der Boden als oberste Schicht der Erdoberfläche und seine geographische Bedeutung. — Sechster Band: Die physikalische Beschaffenheit des Bodens. — Siebenter Band: Der Boden in seiner chemischen und biologischen Beschaffenheit. — Achter und neunter Band: Angewandte oder spezielle Bodenkunde (Technologie des Bodens). — Zehnter Band: Die Maßnahmen zur Kultivierung des Bodens.